

**UNIVERZITA KARLOVA**  
**FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**  
**Katedra farmaceutické technologie**



# **Technologické aspekty formulování pevných roztoků**

Technological aspects of solid solution  
formulations

**PharmDr. Michal Beneš**

**2017**

**Hradec Králové**

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem, které jsem vypracoval samostatně. Veškeré informační zdroje, z nichž jsem při vypracování čerpal, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla využita k získání stejného nebo jiného titulu.

PharmDr. Michal Beneš



## PODĚKOVÁNÍ

Rád bych poděkoval svému školiteli doc. RNDr. Pavlu Doležalovi, CSc. za odborné rady a pomoc v průběhu mého doktorského studia.

Dále bych chtěl moc poděkovat za spolupráci mým kolegům ze společnosti Zentiva, k. s., kteří mi pomohli vždy, když jsem to potřeboval, a také všem lidem, se kterými jsem spolupracoval za pomoc, rady a vydatnou podporu.

Práce byla finančně podpořena grantem Specifického vysokoškolského výzkumu SVV 260 401. Za finanční a materiální podporu děkuji také firmě Zentiva, k. s.

Za skvělé zázemí velmi děkuji své rodině a svým přátelům.

## ABSTRAKT

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra Katedra farmaceutické technologie

Kandidát **PharmDr. Michal Beneš**

Školitel **Doc. RNDr. Pavel Doležal, CSc.**

Název disertační práce **Technologické aspekty formulování pevných roztoků**

Pevné roztoky jsou dvou a vícesložkové, jednofázové směsi pevných látek, obvykle polymerního nosiče a účinné látky (API) v amorfním stavu. Hlavní předností těchto soustav je potenciál zvyšovat rozpustnost API, kterou obsahují. Jejich využití však komplikuje řada faktorů, které masivnějšímu rozšíření zatím brání. Mezi ně patří obtížné určování rozpustnosti léčivých látek v polymerním nosiči, malá předvídatelnost jejich fyzikální stability i těžkosti spojené s výběrem vhodného výrobního procesu a jeho fungováním v průmyslovém měřítku.

Experimentální část práce je rozdělena do tří úseků. V prvním z nich byly pomocí spektrálních zobrazovacích metod (infračervená a Ramanova mikrospektrometrie) hodnoceny polymerní filmy s obsahem API (dabigatran etexilát) nanesené na skleněných deskách. Hodnocené vzorky obsahovaly jako polymerní nosič Kollidon VA64, Povidone K30 a Soluplus, každý s obsahem 10, 25, 50 a 75 % (m/m) API. U vzorků s obsahem Kollidonu VA64 a Soluplusu s obsahem 75 % API bylo detekováno vydělování částic API, tedy druhá fáze.

V další části práce byl zkoumán vliv metody přípravy na fyzikálně chemické vlastnosti pevných disperzí. Zvolená modelová směs API:polymer (febuxostat:Soluplus, 1:2 m/m) byla zpracována deseti různými postupy. Získané vzorky byly podrobeny analýze nukleární magnetickou rezonancí ( $C_{13}$  ssNMR), infračervenou a Ramanovou mikrospektrometrií, modulovanou diferenční skenovací kalorimetrií, analýze specifického povrchu (BET), mikroskopické analýze velikostí částic a disolučnímu testování. Získané výsledky byly zpracovány pomocí nástrojů multivariační datové analýzy (analýza hlavních komponent a metoda nejmenších čtverců – diskriminační analýza). Nejrychlejší a navzájem podobný disoluční profil byl pozorován u vzorků získaných sprejovým sušením a hot-melt extruzí (HME), přestože fyzikálně chemický profil těchto dvou vzorků byl velmi rozdílný.

Poslední úsek práce se soustřeďuje na systematický popis procesu zpracování modelové směsi (febuxostat:Soluplus, 1:2 m/m) pomocí HME. Vliv jednotlivých vstupních proměnných parametrů konkrétního zařízení (ThreeTec ZE 12) na ukazatele průběhu procesu a kvality produktu je popsán pomocí sady statisticky navržených experimentů (DoE). Jako nejvýznamnější procesní parametry s ohledem na průběh procesu a kvalitu produktu je možné označit procesní teplotu a design šroubů.

Z výsledků práce lze v počátečních fázích technologického vývoje léčivého přípravku využít především inovovanou metodu výběru vhodného polymerního nosiče, založenou na spektrálním mapování polymerních filmů. Zajímavé jsou vztahy mezi jednotlivými parametry výrobních metod a kvalitou pevných disperzí nově popsané pomocí nástrojů statistické analýzy a porovnání vlivu jednotlivých parametrů použitých metod na disoluční chování vzorků. Poznatky o vlivu procesních parametrů výrobního zařízení pro HME ThreeTec ZE12 lze využít v pokročilé fázi vývoje ke zlepšení průběhu procesu a kvality finálního produktu.

## ABSTRACT

Charles University, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of Pharmaceutical Technology

Candidate **PharmDr. Michal Beneš**

Supervisor **Doc. RNDr. Pavel Doležal, CSc.**

Title of Doctoral Thesis **Technological aspects of solid solution formulations**

Solid solutions are two- or multicomponent, single phase mixtures of solids, typically consisting of a polymeric carrier and an active substance (API) in amorphous state. The main advantage of solid solutions is the potential to increase the solubility of the API contained. The utilization of solid solutions is however complicated by many factors, which prevents its wider application. These include among other things the difficulty to determine solubility of the API in a polymeric carrier, poor predictability of physical stability as well as the complexity of appropriate selection of manufacturing process and its scalability.

The experimental part is divided in three sections all associated with the technology of solid solutions. In the first of them, polymer films containing the API (dabigatran etexilate) were applied on glass plates and evaluated by spectral imaging techniques (infrared and Raman microspectrometry). Samples containing Kollidon VA64, Povidone K30 and Soluplus as polymer carriers, each loaded with 10, 25, 50 and 75 % (w/w) of the API were subjected to the analyses. Separated particles of API were detected as a segregated second phase in the samples composed of Kollidon VA64 and Soluplus both with 75 % w/w load of the API.

In the next section, ten different methods were used to process the model API:polymer mixture (a 1:2 w/w ratio of febuxostat:Soluplus) into solid dispersions. The influence of the method used for the preparation on physicochemical properties of the samples obtained was investigated. The samples were analyzed by nuclear magnetic resonance (ssNMR C13), infrared and Raman microspectrometry, modulated differential scanning calorimetry analysis of the specific surface (BET), a microscopic particle size analysis and dissolution testing. The results obtained were then evaluated using principal component analysis and the method of least squares-discriminant analysis. The samples produced by spray-drying and hot-melt extrusion had the fastest and most similar dissolution profiles, in spite of these samples having very different physicochemical properties.

The last experimental section details the systematic description of the hot-melt extrusion process applied to the model mixture (febuxostat:Soluplus, 1:2 m/m). The influence of the variable factors of the particular equipment used (ThreeTec ZE 12) on responses associated with the course of the process on the one side and with the product quality on the

other was investigated using design of experiment. Process temperature and screw design were identified to be the most important factors in terms of the product quality and the processability.

The thesis results show that during the initial stages of solid dosage form technical development, an innovated approach based on spectral mapping can be used for polymer carrier selection. Interesting relationships were found between individual parameters of the manufacturing methods and the quality of solid dispersions, which are newly described using tools of statistical analysis. Moreover, a comparison of the influence of the method parameters during dissolution behavior was described similarly. Latterly, findings on the influence of ThreeTec ZE12 HME manufacturing equipment variables can be applied in the advanced development stages to improve process or final product quality.

# OBSAH

<b>Abstrakt .....</b>	<b>4</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>6</b>
<b>Obsah.....</b>	<b>8</b>
<b>Seznam Zkratk .....</b>	<b>10</b>
<b>1. Úvod .....</b>	<b>12</b>
1.1 Pevné disperze, pevné roztoky a metody jejich přípravy.....	13
1.1.1 Definice a fyzikálně-chemické vlastnosti pevných disperzí .....	13
1.1.2 Složení pevných disperzí .....	15
1.1.3 Mechanismus uvolňování účinné látky z pevné disperze.....	16
1.1.4 Výhody pevných disperzí .....	16
1.1.5 Nevýhody pevných disperzí .....	17
1.1.6 Metody přípravy pevných disperzí.....	17
1.1.7 Charakterizace pevných disperzí.....	27
1.1.8 Formulování pevných disperzí .....	28
1.2 Výběr vhodného polymerního nosiče pro přípravu amorfních pevných disperzí.....	28
1.3 Vliv metody přípravy na kvalitu pevných disperzí.....	30
1.4 Multivariační Datová Analýza (MVDA) .....	31
1.5 Statisticky navržený experiment (DoE).....	32
1.5.1 Hodnocení nezpracovaných dat (replicate plot).....	32
1.5.2 Diagnostika regresního modelu (Summary of fit plot) .....	33
1.5.3 Interpretace modelu (Coefficient plot).....	34
1.5.4 Identifikace odlehlých bodů (Normal probability plot of residuals).....	34
<b>2. Cíle práce .....</b>	<b>36</b>
<b>3. Experimentální část.....</b>	<b>37</b>
3.1 Výběr polymeru a zjištění vhodného poměru účinné látky a polymerního nosiče...	37
3.1.1 Materiály a metody pro přípravu pevných disperzí.....	37
3.1.2 Analytické metody .....	38
3.2 Vliv metod přípravy na vlastnosti pevných disperzí.....	40
3.2.1 Materiály a metody pro přípravu pevných disperzí.....	40
3.2.2 Analytické metody použité pro charakterizaci pevných disperzí .....	42

3.3	Vliv procesních parametrů hot-melt extruze na atributy kvality produktu a průběhu procesu.....	45
3.3.1	Materiály a metody pro přípravu pevných disperzí.....	45
3.3.2	Analytické metody .....	45
3.3.3	Statistický návrh experimentu .....	46
<b>4.</b>	<b>Výsledky a diskuze .....</b>	<b>49</b>
4.1	Výběr polymeru a zjištění vhodného poměru účinné látky a polymerního nosiče... ..	49
4.2	Vliv metod přípravy na vlastnosti pevných disperzí.....	57
4.3	Vliv procesních parametrů hot-melt extruze na atributy kvality produktu a průběhu procesu.....	71
4.3.1	Přehled odezev v dílčích experimentech .....	71
4.3.2	Hodnocení modelu pro odezvu Točivý moment (avg).....	72
4.3.3	Hodnocení modelu pro odezvu teplota skelného přechodu (Tg).....	73
4.3.4	Interpretace modelu .....	74
<b>5.</b>	<b>Závěry.....</b>	<b>76</b>
5.1	Výběr polymeru a zjištění vhodného poměru účinné látky a polymerního nosiče... ..	76
5.2	Vliv metod přípravy na vlastnosti pevných disperzí.....	76
5.3	Vliv procesních parametrů hot-melt extruze na atributy kvality produktu a průběhu procesu.....	77
<b>6.</b>	<b>Literatura .....</b>	<b>78</b>
<b>7.</b>	<b>Přílohy .....</b>	<b>87</b>
	Seznam prací autora .....	87
	Příloha 1 .....	88
	Příloha 2 .....	106
	Příloha 3 .....	117

## SEZNAM ZKRATEK

AFM	Mikroskopie atomových sil
API	Účinná látka (Active pharmaceutical ingredient)
AUC	Plocha pod farmakokinetickou (koncentrace/čas) křivkou
BCS	Biofarmaceutický klasifikační systém (Biopharmaceutical classification systém)
C <sub>max</sub>	Maximální dosažená plasmatická koncentrace
DoE	Statisticky navržený experiment (Design of experiment)
(m)DSC	(Modulovaná) Diferenční skenovací kalorimetrie
EC	Ethylcelulosa
FDA	Americká léková agentura (Food and drugs administration)
FTIR	Infračervená spektrometrie s Fourierovou transformací
GIT	Gastrointestinální trakt
HME	Hot-melt extruze
HME + X % EtOH	Metoda přípravy u níž je HM extrudát vystaven parám X % vodného roztoku ethanolu
HPC	Hydroxypropylcelulosa
HPMC	Hydroxypropylmethylcelulosa
HPMCP	Ftalát hydroxypropylmethylcelulosy
HPMCAS	Acetát-sukcinát hydroxypropylmethylcelulosy
IR	Infračervená (infrared) spektrometrie
(M)DSC	(Modulovaná) diferenční skenovací kalorimetrie
PAT	Zařízení pro monitorování procesu (process analytical technology)
PC	Hlavní komponenta (principal component)
PCA	Analýza hlavních komponent (principal component analysis)
PEG	Polyethylenglykol
PLS-DA	Metoda nejmenších čtverců – diskriminační analýza (Partial least squares – diskriminant analysis)
PSD	Distribuce velikosti částice (Particle size distribution)
PVP	Polyvinylpyrrolidon
RS	Ramanova spektrometrie
RSD	Relativní směrodatná odchylka průměru
RVE	Metoda přípravy pomocí rotační vakuové odparky
SD	Sprejové sušení
SE	Metoda přípravy odpařováním rozpouštědla
SE at 50 °C	Metoda přípravy odpařováním rozpouštědla při teplotě 50 °C
SDS	Laurylsíran sodný
SEM	Skenovací elektronová mikroskopie



ssNMR	Pevnofázová nukleární magnetická rezonance (Solid state nuclear magnetic resonance)
SSA	Specifický povrch (Specific surface area)
TEM	Transmisní elektronová mikroskopie
Tg	Teplota skelného přechodu
TGA	Termogravimetrická analýza
VA-PVP	Vinylacetát-polyvinylpyrolidon
XRPD	Prášková rentgenová difrakce (X-ray powder diffraction)

# 1. Úvod

Velká část účinných látek (více než 40 %) vykazuje v různých fázích vývoje nízkou rozpustnost ve vodě. [1-7] Tato skutečnost představuje vážné problémy při uvádění nových léčivých přípravků na trh. [2] Systémový účinek perorálního léčivého přípravku, je podmíněn uvolněním rozpuštěné účinné látky v gastrointestinálním traktu, odkud se může (obvykle) přes střevní stěnu dostat do krve a následně přes játra (pokud zde není inaktivována) do systémového oběhu. Hlavní příčinou, která tuto trajektorii u většiny nových účinných látek narušuje, je špatná disoluce způsobená nízkou rozpustností. Většina špatně rozpustných látek spadá do BCS skupiny 2, mají tedy dobrou permeabilitu a krokem, který u nich řídí vstřebávání, je disoluce účinné látky. [2, 6, 7]

Mezi technologická řešení, která se uplatňují ve formulačním vývoji k překonání nízké rozpustnosti účinných látek, patří zejména tvorba solí nebo proléčiv, redukce velikosti částic (mikronizace, nanokrystaly), použití lépe rozpustného polymorfu, resp. amorfu, tvorba micel, mikro- a nanoemulzí, nanosuspenzí, tvorba pevných disperzí, cyklodextrinových a jiných komplexů a lipidických formulací. [2, 8-10]

Intenzivní výzkum pevných disperzí dokumentovaný řadou odborných publikací zaměřených na různé aspekty této technologie posunuje tvorbu pevných disperzí mezi zavedené přístupy při formulování špatně rozpustných účinných látek. [11, 12] Dokladem praktického využití je i výrazný nárůst počtu léčivých přípravků založených na obsahu pevné disperze a v poslední době schválených agenturou FDA. [8, 13]

Avšak navzdory aktivnímu výzkumu a rostoucímu počtu registrovaných přípravků je celkový počet dostupných léčiv spíše nízký, což je připisováno na vrub především problémům s fyzikálně-chemickou stabilitou přípravků obsahujících pevné disperze API, včetně nestability při výrobních procesech. [2, 14] Tyto těžkosti je částečně možné překonat vhodným výběrem polymerního nosiče, který obvykle tvoří převážnou část objemu pevné disperze. Kvalitu pevných disperzí je možné ovlivnit také vhodným výběrem výrobního postupu, resp. přizpůsobením aplikovaných procesních parametrů. Na tyto aspekty formulování pevných disperzí je tato práce zaměřena. Zvoleným výrobním postupem, na jehož procesní parametry se práce blíže zaměřuje, je hot-melt extruze (HME).

## 1.1 PEVNÉ DISPERZE, PEVNÉ ROZTOKY A METODY JEJICH PŘÍPRAVY

### 1.1.1 DEFINICE A FYZIKÁLNĚ-CHEMICKÉ VLASTNOSTI PEVNÝCH DISPERZÍ

Pojem pevná disperze je tradičně definován jako soustava jedné nebo více účinných látek v inertním nosiči nebo matrici v pevném skupenství připravená buď tavením, nebo metodou založenou na rozpuštění a odpaření rozpouštědla. Účinná látka může být dispergována jako jednotlivé molekuly, amorfni částice, nebo krystalické částice, zatímco nosič může být amorfni nebo krystalický. Pevnou disperzi není prostá směs účinné látky s plnivem připravená tradičním mechanickým mísením. [2, 5]

Jde o zdánlivě jednoduchý nejméně dvousložkový systém, v němž účinná látka a polymer vystupují jako rozpouštěná látka a rozpouštědlo. V závislosti na složení a zpracování směsi může mít pevná disperze různou strukturu. [15] Podle struktury mohou být pevné disperze rozděleny na eutektické směsi [5], krystalické nebo skelné roztoky a amorfni, resp. krystalické suspenze. [8]

Nejvýhodnějším a nejvíce žádaným uspořádáním pevné disperze je takové, ve kterém je obsah účinné látky nižší, než je její rovnovážná rozpustnost v polymeru, zároveň je účinná látka v polymerní matrici molekulárně dispergována a tvoří termodynamicky stabilní, amorfni, homogenní soustavu. [6, 8] Tento stav (tzv. skelný, neboli pevný roztok) také odpovídá novější definici, která uvažuje pevné disperze v užším smyslu jako molekulární disperze hydrofilního polymerního nosiče a látky špatně rozpustné ve vodě, jejichž krystalinita byla kompletně odstraněna – tedy stav amorfni pevné disperze. [16]

Amorfni pevné disperzní soustavy mají mnoho výhodných vlastností – zejména výrazně zlepšují rozpustnost, a tím zrychlují disoluční profil u účinných látek špatně rozpustných ve vodě. [2, 17] Zvýšená rozpustnost a rychlejší uvolňování účinné látky, která je jinak rozpustná jen těžko, je vysvětlována zmenšením velikosti částic (až na úroveň molekul) a zlepšením smáčivosti. [2, 6]

Amorfni pevné látky mají nižší vnitřní energii než jejich krystalické ekvivalenty. [9] Při rozpouštění krystalických látek je nutné nejprve překonat energii vazeb krystalické mřížky. [6, 18, 19] Tím jsou způsobeny výrazné rozdíly v rozpustnosti mezi krystalickými a amorfni látkami, které mohou dosahovat tisícinásobku ve prospěch amorfni formy. Experimentálně bylo například zjištěno, že tvorba amorfni pevné disperze může zvýšit  $C_{max}$  a AUC krystalické látky (resp. prosté fyzikální směsi účinné látky s polymerem) 1,5 až 82krát, respektive 1,6 až 113,5krát. [9] Ze stejného důvodu (absence energetické bariéry) jsou však amorfni látky také méně stabilní. [20, 21]

U většiny kombinací účinné látky a polymeru dochází k tvorbě jednofázové amorfni pevné disperze jen při velmi malém obsahu účinné látky, resp. při vysoké teplotě. Se snižující se teplotou dochází k přesycování roztoku a účinná látka, je-li její

obsah příliš vysoký, má tendenci precipitovat. Může docházet ke vzniku krystalických částic v nasycené polymerní matici, v níž koncentrace rozpouštěné účinné látky odpovídá termodynamické rozpustnosti. Je-li ochlazování směsi (resp. odpařování rozpouštědla) dostatečně rychlé - krystalizace je pomalý proces s vyšší energetickou bariérou - může nastat i prostřední případ. Metastabilní struktura supersaturované polymerní matrice, jejíž koncentrace účinné látky opět odpovídá termodynamické rozpustnosti, avšak navíc obsahuje dispergované amorfnní agregáty účinné látky. [8] Oba tyto stavy vedou k poklesu zdánlivé rozpustnosti účinné látky a ke zpomalení disoluce z pevné disperze. [16, 22]

K získání jednofázové směsi amorfnní účinné látky s polymerem je nutným předpokladem určitá rozpustnost API v polymeru a mísitelnost složek a kinetická stabilizace nosičem. Termínem pevnofázová rozpustnost se rozumí termodynamická rozpustnost jedné pevné látky ve druhé. Mísitelností v pevné fázi je označována schopnost tvořit směs dvou amorfnních látek pod superkritickou teplotou. Kinetickou stabilizaci je možné popsat jako jev, při němž je účinná látka v supersaturovaném stavu imobilizována vlivem velmi vysoké viskozity v matici tak, že nedochází k fázové separaci a ke krystalizaci. Tento jev bývá označován také jako antiplastifikační efekt. Význam kinetické stabilizace je hlavním důvodem pro zavedené pravidlo Tg-50 °C, které při skladování při teplotě o 50 °C nižší, než je teplota skelného přechodu dané směsi zajistí snížení molekulární mobility amorfnní účinné látky na zanedbatelnou úroveň, čímž je zajištěna dostatečná fyzikální stabilita (tj. nedochází k rekrystalizaci účinné látky z amorfnní pevné disperze). Zvýšená molekulární mobilita je hlavním mechanismem fázové separace a krystalizace. [16]

Vedle antiplastifikačního efektu polymeru má velmi významný vliv na fyzikální stabilitu amorfnních pevných disperzí také tvorba vodíkových vazeb mezi molekulami dispergované účinné látky a polymerního nosiče. Tvorba vodíkových můstků mezi účinnou látkou a polymerem zabraňuje formování můstků mezi molekulami účinné látky. [16, 23] Zároveň vodíkové můstky mezi léčivem a polymerem ovlivňují vlastnosti produktu. Velmi silné interakce mohou pomoci zabránit termální degradaci účinné látky, zvyšovat rozpustnost v polymerní matici a zlepšovat mísitelnost. Všechny tyto mechanismy předcházejí agregaci molekul a následné krystalizaci účinné látky v pevné fázi (zvyšují fyzikální stabilitu), ale zpomalují i rekrystalizaci při disoluci v gastrointestinálním traktu. [24] Amorfnní pevné disperze je obvykle možné charakterizovat jednou teplotou skelného přechodu (Tg), která leží mezi hodnotami Tg samotného polymeru a amorfnní formy účinné látky. Hodnotu Tg je možné také interpretovat jako rozsah a intenzitu nevazebných interakcí mezi komponentami pevné disperze. [16, 18, 25]

### 1.1.2 SLOŽENÍ PEVNÝCH DISPERZÍ

Nosičem pevné disperze (platí především pro eutektické směsi) mohou být krystalické látky (např. urea, sorbitol, mannitol), které však obvykle mají velmi vysoké teploty tání, a proto se nehodí pro přípravu pevných disperzí metodami založenými na tavení. Urea je dobře rozpustná ve vodě a mnoha dalších organických rozpouštědlech, zatímco rozpustnost cukerných alkoholů je nižší a jejich použití proto není tak běžné. Mnohem častěji, a to i v souvislosti s novější definicí pevných disperzí jako amorfních systémů, se jako nosiče uplatňují především polymery, [2] nejčastěji polyethylenglykoly (PEG), deriváty celulosy, polyakryláty a polymethakryláty a polyvinylpyrolidony (PVP). [10] Nevýhodou polyethylenglykolů je semikrystalická struktura (může zpomalit disoluci), na druhou stranu je výhodná jejich nízká teplota skelného přechodu (pod 65 °C). Hodnoty skelného přechodu polyvinylpyrolidonů jsou ve srovnání s PEG o dost vyšší. [2] Kromě krospovidonu jsou všechny tyto polymery velmi dobře rozpustné ve vodě a mohou tak zlepšit smáčivost účinné látky při dispergaci pevné disperze ve vodě. Rozpustnost těchto polymerů ve vodě se často snižuje se vzrůstající molekulovou hmotností, zatímco viskozita jejich roztoků roste. Vysoká viskozita lépe brání rekrystalizaci, například po podání v gastrointestinálním traktu (GIT), na druhou stranu, ale zpomaluje disoluci účinné látky. [20] Proto je molekulová hmotnost polymeru velmi důležitým faktorem při výběru vhodného nosiče. [2] Zároveň však použití hydrofilního nosiče významně zvyšuje pravděpodobnost rekrystalizace. [18]

Vhodnou volbou polymerního nosiče je možné řídit uvolňování účinné látky například tím, že nebude vystavena účinku agresivních žaludečních šťáv, které by mohly způsobit degradaci účinné látky, nebo její precipitaci. Pro enterosolventní lékové formy se používají například etylcelulosa (EC), ftalát hydroxypropyl-methylcelulosy (HPMCP), acetát-sukcinát hydroxypropylmethylcelulosy (HPMCAS), methakryláty (např. Eudragit L). Dále je pro výběr nosiče důležitý rozsah interakcí s účinnou látkou. Některá léčiva mohou fungovat jako plastifikátory nebo tvořit s nosičem vodíkové vazby. To ovlivňuje proces přípravy, fyzikální formu účinné látky (amorfní/krystalická), disoluci účinné látky i stabilitu pevné disperze. [2, 5]

Projevem fyzikální nestability amorfní pevné disperze je rekrystalizace z amorfní fáze, která může nastat už během výrobního procesu (při ochlazování, resp. při odstraňování rozpouštědla) anebo během skladování. Procesu rekrystalizace je možné předcházet přidavkem vhodného surfaktantu nebo emulgátoru. [2] To je výhodné zejména v případě, je-li jako nosič použit hydrofilní polymer. [18] Přídavek takového aditiva může zároveň zlepšit disoluci účinné látky v důsledku zlepšení mísitelnosti, resp. rozpustnosti účinné látky v nosiči. Disoluční profil je možné zrychlit zlepšením smáčivosti. Mezi konkrétními látkami, které se v této funkci uplatňují, je možné jmenovat, laurylsíran sodný (SDS), polysorbát 80 (např. Tween 80), polyoxyethylenovaný polyhydrogenovaný ricinový olej, poloxamery, glyceryl dibehanát

(např. Compritol 888ATO), lauroyl makrogol-32 glycerid (např. Gelucire 44/14), nebo polyethylenglykol-polyvinylacetát-polyvinylkaprolaktam-kopolymer (Soluplus). [2] Vhodně zvoleným surfaktantem v nízké koncentraci lze také významně zlepšit zpracovatelnost – například snížením viskozity, snížením teploty skelného přechodu směsi. [18]

### 1.1.3 MECHANIZMUS UVOLŇOVÁNÍ ÚČINNÉ LÁTKY Z PEVNÉ DISPERZE

Rychlejší uvolňování účinné látky z pevných disperzí je obecně připisováno jednomu z následujících mechanismů: tvorba eutektické směsi, snížení krystalinity, zvětšení povrchu účinné látky dispergací v polymerním nosiči, u skelných roztoků spojeným se zmenšením částic API až na molekulární úroveň, případně zlepšení smáčivosti díky blízkému kontaktu účinné látky s hydrofilním polymerem. [15]

Pokud je pevná disperze rozptýlena ve vodě, hydrofilní polymerní nosič se obvykle začne rozpouštět, nebo absorbuje vodu a na jeho povrchu se přitom tvoří gelová vrstva, ze které se účinná látka uvolňuje do okolního prostředí difuzí. Pokud je viskozita gelové vrstvy příliš vysoká a difuzi účinné látky brání, řídí se rychlost uvolňování vlastnostmi polymerního nosiče – zejména jeho rozpustností, smáčivostí, viskozitou a schopností tvořit gel. Tento mechanismus je pro pevné amorfní a molekulární pevné disperze charakteristický a označuje se jako uvolňování řízené nosičem. [2, 8, 26]

U pevných disperzí, uvolňujících účinné látky mechanismem eroze, závisí uvolňování účinné látky do okolního prostředí na vlastnostech částic API (velikost, polymorfní forma). Takové uvolňování se označuje jako řízené účinnou látkou a obvykle je mnohem pomalejší. [2, 22]

Rozpouštění pevných disperzí obvykle generuje ve vodném prostředí GIT oblasti supersaturovaného roztoku účinné látky. Účinná látka má v tomto stavu tendenci k rekrystalizaci. Ta zabraňuje absorpci a dochází tak ke snížení biodostupnosti. Této nežádoucí rekrystalizaci je možné zabránit, resp. ji po dostatečně dlouhou dobu pozdržet, použitím vhodného inhibitoru rekrystalizace. Jako inhibitor rekrystalizace je možné použít stejné polymery, které zabraňují precipitaci v pevné fázi během skladování, například HPMC, HPC, HPMCAS, VA-PVP. Vhodně zvoleným polymerním nosičem, resp. kombinací polymerů v nosiči lze naráz ovlivnit fyzikální stabilitu, tendenci k rekrystalizaci a disoluční chování konkrétní pevné disperze. [8]

### 1.1.4 VÝHODY PEVNÝCH DISPERZÍ

Interakce účinné látky v amorfním stavu s polymerním nosičem zabraňuje aglomeraci částic léčiva. Účinná látka vytváří uvolňováním do vodného prostředí supersaturovaný roztok, který je mnohem výhodnější pro rychlou absorpci, a to i v případě, že vlivem přesycenosti roztoku dochází k precipitaci, jelikož vytvořené částice mají rozměr pod 1  $\mu\text{m}$ , tedy menší, než mikročástice připravené konvenční mikronizací.

Disoluce účinné látky z částic takového rozměru je odpovídajícím způsobem vyšší, než u běžných mikročástic. [2]

Dalšími výhodami pevných disperzí, které zajišťují vyšší biodostupnost API, je lepší smáčivost, porozita a změna krystalinity. Lepší smáčivost způsobenou přítomností hydrofilního polymeru je možné ještě dále zvýšit přidavkem surfaktantu inkorporovaného přímo ve struktuře pevné disperze. Vysoký stupeň dispergace surfaktantu také snižuje riziko aglomerace částic v disolučním médiu. Mnoho polymerních nosičů současně funguje jako solubilizátor. Pevné disperze, zejména ty, které jsou připraveny metodou odpařování rozpouštědla, mají velmi velký povrch. Specifický povrch lze také zvýšit použitím polymerního nosiče s lineárními molekulami, namísto zesíťovaných. [2, 27]

#### 1.1.5 NEVÝHODY PEVNÝCH DISPERZÍ

Největším problémem pevných disperzí je rekrystalizace účinné látky z amorfni na krystalickou během skladování. Tento projev fyzikální nestability může výrazně snížit biodostupnost účinné látky. Obecně lze amorfni pevné disperze charakterizovat jako soustavy, které jsou fyzikálně i chemicky méně stabilní, než korespondující krystalické látky, resp. krystalické pevné disperze. [9]

Průběh rekrystalizace je možné popsat dvěma kroky, kterými jsou nukleace a následný růst krystalů. K oběma dějům dochází prostřednictvím difuze, resp. přeskupování molekul léčiva. Přeskupování se děje posunem buď celých molekul nebo jejich částí, např. rotací na jednoduchých vazbách. [2, 8] Molekulární mobilita se dostává na zanedbatelnou úroveň při teplotě o 50 °C nižší, než je teplota skelného přechodu amorfni pevné disperze. Teplota skelného přechodu může být navíc snížena přítomností molekul vody v její struktuře. Omezením teploty, resp. úrovně vlhkosti při skladování je proto možné výrazně zlepšit stabilitu léčivého přípravku s obsahem amorfni pevné disperze. [2]

V literatuře je popisován podstatný vliv procesních podmínek (mísení, rychlost ohřevu, maximální teplota, rezidenční čas, způsob a rychlost chlazení, rychlost odpařování rozpouštědla, apod.) na fyzikálně chemické vlastnosti pevných disperzí. S tím souvisí možné potíže s reprodukovatelností kvality přípravků. [13]

Další popisovanou nevýhodou je nedostatek relevantních znalostí v oblasti *in vitro/in vivo* korelací, kde nelze přímo uplatnit znalosti o chování konvenčních formulací. [22]

#### 1.1.6 METODY PŘÍPRAVY PEVNÝCH DISPERZÍ

Existují dva principy, na nichž jsou metody přípravy pevných disperzí založeny. Princip tavení, který je vhodný pro látky, jejichž teplota tání není příliš vysoká a princip odpařování rozpouštědla, který je vhodný pro látky rozpustné v těkavých

rozpouštědlech. [2, 8] Jedním z průmyslově nejvýznamnějších procesů pro výrobu pevných disperzí je hot-melt extruze, na níž se text v této části (viz str. 19) zaměřuje.

### **METODY ZALOŽENÉ NA ODPAŘOVÁNÍ ROZPOUŠTĚDLA**

Pomocí metod založených na odpařování rozpouštědla se pevné disperze získávají z roztoku, který dále obsahuje nosič a účinnou látku. [5] Odpařovací metody přípravy pevných disperzí řeší hlavní nevýhodu technik založených na principu tavení, kterou je vysoká teplota procesu. Odpařování rozpouštědla může být provedeno bez nutnosti zvýšení teploty, například snížením tlaku, případně lyofilizací (tj. mrazovým sušením). [2]

Základním předpokladem výroby pevných disperzí odpařováním rozpouštědla je dostatečná rozpustnost účinné látky i nosiče ve společném rozpouštědle. [6] Nalezení vhodného (mj. také netoxického) rozpouštědla, které rozpouští zároveň hydrofilní nosič a účinnou látkou obvykle hydrofobního charakteru, však bývá obtížné. Příkladem běžně používaných rozpouštědel jsou methanol, ethanol, ethylacetát, metylenchlorid, aceton, voda a jejich směsi. Pro zvýšení rozpustnosti je možné použít surfaktanty (např. Tween, SDS). [2]

Nejvýznamnějším nedostatkem těchto metod je obsah zbytkových rozpouštědel ve vzniklých pevných disperzích, jejichž úplné odpaření je obtížné. Zbytková rozpouštědla mohou pevnou disperzi plastifikovat (snížit  $T_g$ ) a snižují její fyzikální stabilitu. Další nevýhodou jsou velmi vysoké výrobní náklady, které mj. souvisejí například s nutností ochrany zařízení proti výbuchu par rozpouštědla. Problémem je také zvětšování výrobního měřítka (scale-up). Z těchto důvodů je preferovaným způsobem výroby pevných disperzí hot-melt extruze. [2, 28]

Odstranění rozpouštědla z roztoku nosiče a účinné látky je možné provést mnoha různými způsoby. Ty se vzájemně liší především rychlostí odpařování rozpouštědla, která určuje krystalinitu a další, zejména fyzikální vlastnosti produktu. Preferovaná je co nejvyšší rychlost odstranění rozpouštědla, která zajistí vznik amorfni pevné disperze. [13] Nejrozšířenější a velmi efektivní technologií založenou na odpařování rozpouštědla je sprejové sušení (SD), které umožňuje extrémně rychlé odpaření rozpouštědla a téměř okamžitou amorfizaci. Různé aspekty sprejového sušení jsou podrobně popsány například v přehledovém článku z roku 2013. [29] Průmyslově využívanými metodami fungujícími na principu odpařování jsou například také lyofilizace, válcové sušení, vakuové sušení, elektrospinning, koprecipitace, mrazové sušení, apod. [2, 3, 30, 31]

### **METODY PŘÍPRAVY ZALOŽENÉ NA TAVENÍ**

Metody založené na tavení spočívají v zahřívání směsi účinné látky a nosiče nad tzv. eutektickou teplotu, která je nejnižším bodem, při které směs kompletně roztaje. Tato teplota je závislá na složení směsi, tj. závisí na použitém nosiči, účinné látce a na jejich vzájemném poměru. Tato teplota může být mnohem nižší, než jsou teploty



skelného přechodu amorfních forem použitých komponent. Dalším stupněm přípravy je tuhnutí směsi způsobené ochlazováním taveniny. [2] Výhodou tavicích metod je, že nevyžadují přítomnost rozpouštědla a navíc jde o relativně jednoduchý a ekonomický proces. Snadno (tj. rychlým ochlazením) lze také získat supersaturované, velmi homogenní systémy. [5] Důležitým předpokladem pro vytvoření pevné disperze je vzájemná mísitelnost použitých komponent. To je zajištěno zejména vhodným výběrem nosiče, jehož fyzikálně chemické vlastnosti jsou podobné vlastnostem účinné látky. Nevhodná volba nosiče způsobuje fázovou separaci při ochlazování (čím je chlazení pomalejší, tím větší je riziko oddělení fází) nebo během skladování, případně vůbec nemusí dojít k promísení tavenin (například je-li viskozita taveniny polymeru příliš vysoká), tomu lze částečně předejít přidáním surfaktantu. [2, 23]

Vedle potíží s mísitelností je nejpodstatnějším nedostatkem metod založených na tavení to, že mnoho látek (účinných i polymerních nosičů) se při vysokých teplotách procesu rozkládá nebo vypařuje. [5] Čas, po který termosenzitivní účinná látka setrvává při vysoké teplotě, je možné zkrátit tím, že je přimísena až k roztavenému nosiči a nezahřívají se společně. [2] Případně lze procesní teplotu snížit přidáním plastifikátoru, tj. látky s nižším  $T_g$ , než má polymerní nosič. [32]

Nejvýznamnějšími technikami založenými na principu tavení, které se uplatňují průmyslově, jsou hot-melt extruze [33-35] (také extruze tavenin, podrobněji viz další odstavec) a hot-melt aglomerace (někdy také hot-melt granulace). Hot-melt aglomerace je metoda, kde se taveninou, obsahující účinnou látku, granuluje obvykle v hnětacím granulátoru směs pomocných látek. [34] Proces může probíhat také tak, že se směs obsahující polymerní nosič, účinnou látku a další excipienty společně granulují při zvýšené teplotě v hnětacím granulátoru, jehož stěna je temperovaná. [2, 28]

### HOT-MELT EXTRUZE

Hot-melt extruze (nebo také extruze tavenin, zkratka HME) je proces, který protlačováním zpracovávaného materiálu tryskou pomocí rotačních šroubů a za zvýšené teploty vede ke vzniku produktu uniformního vzhledu (tvar, hustota). [36, 37] Jde o kontinuální výrobní postup, který nevyžaduje dodatečné sušení, ani jiné mezikroky. [18]

První zmínky o využití procesu HME spadají do 18. století a týkají se výroby potrubí. Od roku 1930 se tento proces uplatňuje průmyslově při výrobě potravin a polymerů. [38] Dnes se jedná o jeden z nejrozšířenějších výrobních postupů, například v průmyslu polymerů se touto technologií vyrábí více než polovina všech výrobků (např. tašek, sáčků, folií, trubek, apod.). [36, 39]

Vzhledem k četným výhodám (vynikající mísící, deagregační a hnětací schopnosti a s tím spojená výborná obsahová stejnoměrnost produktu - 99-101 %) oproti některým výrobním postupům tradičně používaných ve farmacii (např. suchá granulace), si HME v poslední době vysloužila zvýšenou pozornost při výrobě léčiv. [37] První použití této technologie ve farmaceutické výrobě je datováno rokem 1980. [38]

Zařízení používaná ve farmacii se od těch používaných pro zpracování plastů liší jen málo. Hlavní rozdíl spočívá v materiálu použitém pro výrobu těch částí zařízení, které přicházejí do přímého kontaktu s produktem. Použitý materiál nesmí být reaktivní a nesmí ovlivňovat kvalitu produktu aditivně ani absorpčně (nesmí uvolňovat, ani zachycovat žádné částice). Další rozdíly mohou spočívat v úpravách zařízení tak, aby bylo možné ho jednoduše čistit a validovat, a mohlo tak snadno splnit regulační požadavky. [36]

Úspěšné použití HME v různých farmaceutických aplikacích je v odborné literatuře často popisováno. Proces zahrnuje přetváření výchozí směsi, obsahující obvykle účinnou látku, jeden nebo více tavitelných polymerů a další pomocné látky (plastifikátory, modifikátory pH, inhibitory krystalizace, apod), na homogenní, pravidelně dispergovanou hmotu, která poté, co opustí extrudér, tuhne. Jsou-li jednotlivé komponenty vzájemně mísitelné, má výsledná hmota charakter amorfni pevné disperze, ve které ztuhlý polymer slouží jako pojivo. [39] Během procesu HME dochází v jednom okamžiku souběžně k mísení výchozí směsi, zahřívání, tavení a vytlačování produktu, kterým může být prášek, granulát (získané mletím extrudátu), pelety, tablety, filmy pro transdermální/transmukosální podání, atd. [2, 10, 39]

Ve srovnání s tradičními výrobními technikami používanými ve farmacii, nabízí HME i další výhody:

1. Proces probíhá bez použití vody, resp. jiných rozpouštědel.
2. Je třeba provést méně procesních kroků (méně časová náročnost).
3. Jde o kontinuální, jednoduchý a efektivní proces.
4. Krátký rezidenční čas (ve srovnání s jinými procesy založenými na podobném principu – např. hot-melt granulace).
5. Relativně snadné škálování (scale-up) založené na geometrii zařízení.
6. Možnost zvýšení biodostupnosti, resp. řízeného uvolňování účinné látky vhodným výběrem nosiče. [39]

Mezi hlavní nevýhody HME patří zejména:

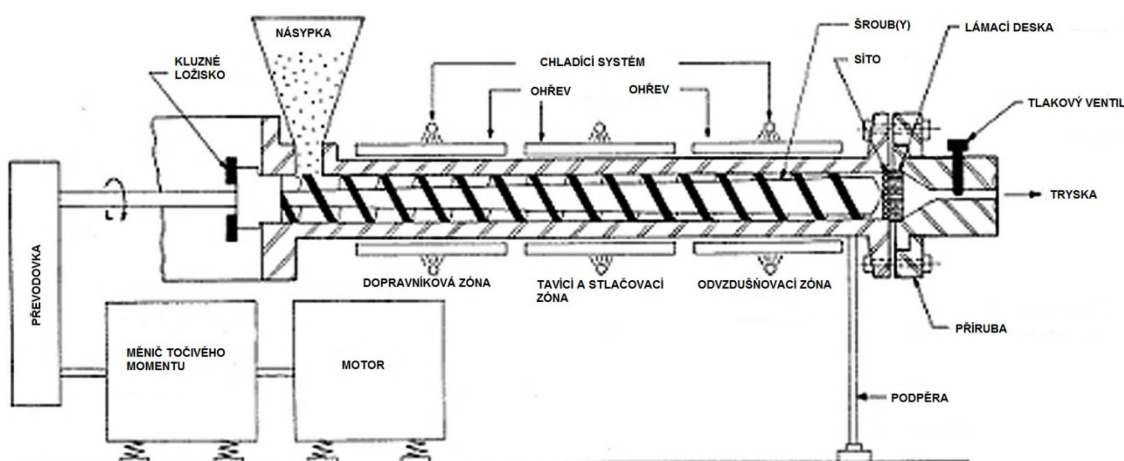
1. Problematická mísitelnost účinné látky a s tím spojený obtížný výběr vhodného nosiče (resp. polymeru).
2. Lokálně vysoká teplota uvnitř zařízení, která spolu s výrazným mechanickým namáháním (střih způsobený otáčením šroubů) může způsobit například chemickou degradaci účinné látky. [2]

## **ZAŘÍZENÍ PRO HOT-MELT EXTRUZI**

Podle typu konstrukce zařízení je možné HME rozdělit na pístovou a šroubovou. Součástí šroubového extrudéru je alespoň jeden rotující šroub uvnitř komory

s vyhříváním pláštěm, zatímco pístový extrudér funguje na principu vysokého tlaku, generovaného posuvným pístem uvnitř vyhříváního válce. Během pístové extruze je působením tepla a tlaku pístu roztavený materiál vytlačován z válce do požadovaného tvaru tryskou. Tento typ extruze je vhodný pro přesnou extruzi drahých materiálů. Hlavním nedostatkem pístové extruze je omezená možnost tavení materiálu, která je způsobena špatnou distribucí tepla v extrudéru. Také homogenita produktu je ve srovnání s materiálem vytovřeným šroubovou extruzí mnohem horší, což je způsobeno absencí intenzivního mísení a stříhového namáhání. Pístový extrudér se ve farmacii nepoužívá [36], proto se další popis zabývá výhradně šroubovými extrudéry.

Zařízení pro šroubovou extruzi se obvykle skládá z několika samostatných částí: dávkovače, dopravníkového systému pro transport a mísení materiálu (vlastní extrudér) a z doplňkového zařízení pro ohřev a chlazení, dělení, sbírání (apod.) produktu. Schéma typického extrudéru je uvedeno na obrázku 1. [36]



**OBRÁZEK 1** Schéma šroubového extrudéru. [36]

Součástí mohou být také další příravná zařízení monitorující např. průběh procesu, nebo kvalitu produktu (viz dále). [37] Jednotlivými komponentami vlastního extrudéru jsou: nasyпка na materiál, komora s možností temperování/chlazení (zařízení je obvykle vyhříváno topnými segmenty s regulací pomocí termočlánků a chlazeno vzduchem, ev. vodou nebo olejem), rotační šroub(y) a tryska. Dalšími systémy, kterými může být zařízení vybaveno, je dávkovač materiálu, který buď volumetricky, nebo gravimetricky doplňuje materiál do nasyčky zařízení. Doplňkovým zařízením může být zařízení pro PAT (process analytical technology) pro on-line monitorování procesu, resp. vlastností produktu (např. IR sonda u ústí trysky k hodnocení homogenity, případně krystalinity produktu). Dále může jít o dávkovače kapalných nebo pevných aditiv (např. plastifikátorů), vakuové pumpy, sloužící k odstraňování bublin v extrudátu. Standardem bývají zařízení (čidla) pro snímání procesních parametrů (např. k měření tlaku, teploty, rychlosti otáčení šroubů, ampérmetr, viskozimetr, apod.). [36]

Komoru extrudéru je podélně možné hypoteticky rozdělit podle funkce na tři zóny (viz obrázek 1): dopravníková (feeding section), tavicí a stlačovací (compression) a

odvzdušňovací (metering), která zároveň ustaluje tok materiálu. [36, 37, 40] Před začátkem procesu hot-melt extruze jsou jednotlivé zóny komory extrudéru vyhřívány na požadovanou teplotu. Po dosažení nastavené teploty se zpracovávaná směs (případně další aditiva) dávkuje násypkou zařízení do komory. Materiál je pomocí rotujícího šroubu transferován dále, do tavicí zóny zařízení. [35, 39] Obíhá po šroubovici směrem k trysce prostřednictvím příčného toku materiálu, tlaku šroubu, proniká mezerami mezi šroubem a stěnou komory.

Design šroubu svým členěním odpovídá zónám extrudéru. Část šroubu, která je určená k posunování materiálu má jednotlivé závity hluboké (objem vzniklého kanálku je velký). V tavicí zóně je hloubka závitů menší, čím se zvětšuje třecí plocha materiálu s vyhříváním pláštěm komory. Vlivem přenosu tepelné energie od topných segmentů a mechanické energie (zvýšeného tření) dochází uvnitř komory postupně k měknutí a tání zpracovávaného materiálu. Množství roztaveného materiálu se zvyšuje a v ideálním případě nezůstane žádný pevný podíl. [39] Do tavicí zóny je možné umístit hnětací, eventuelně mísící segmenty šroubu, které zlepšují přenos mechanické energie vložené do materiálu. Design šroubu je u většiny extrudérů modulární a jednotlivé segmenty je možné přemísťovat/zaměňovat, a to tak, aby bylo dosaženo vhodné homogenity směsi. [38] Z taveniny je pomocí odvzdušňovacího ventilu nebo vakuové pumpy možné odstranit těkavé látky, eventuelně vzduchové bubliny zachycené v tavenině vlivem intenzivního hnětení. Odstraňování bublin/těkavých látek se obvykle děje ve stlačovací zóně. Šroub má v této části extrudéru jemné stoupání a jeho další funkcí je zde ustalování toku materiálu (odstraňování pulzů). Na konec je roztavený materiál protlačen tryskou, kterou se formuje extrudát. [36, 41, 42] Tvar trysky určuje tvar, resp. formu extrudátu. Může být na průřezu kulatý, anebo plochý (vytváří film), apod. [36] Extrudát může dále vstupovat do přídatného zařízení (např. mlýnu, peletizéru, apod.) k dalšímu zpracování. [35, 39]

### JEDNOŠROUBOVÝ EXTRUDÉR

Extrudéry jsou dostupné v provedení s jedním, nebo s více šrouby. Níže jsou uvedeny základní charakteristiky jedno- a dvoušroubových extrudérů. Základním typem extrudéru je jednošroubový extrudér. Jak z názvu vyplývá, uvnitř pracovní komory se otáčí pouze jeden šroub, který slouží pro dávkování i posunování materiálu, mísení, eventuelně hnětení, usnadňuje tání materiálu, zajišťuje ustalování jeho průtoku a pumpování (generuje tlak potřebný k protlačování). [36, 42] Mísící schopnost jednošroubového extrudéru je ve srovnání s dvoušroubovým nízká. Další nevýhodou jednošroubového zařízení je špatná transportní schopnost, která se výrazně projevuje zejména u přístrojů, jejichž šroub má průměr menší než 18 mm. [41] Výsledkem horší mísící a transportní schopnosti je ve většině případů prodloužení doby, po kterou je materiál v komoře zařízení (tzv. rezidenční čas), tím může dojít k degradaci

zpracovávaného materiálu. Jednošroubové extrudéry jsou tedy levnější alternativou. [37]

### DVOUŠROUBOVÉ EXTRUDÉRY

Dvoušroubové extrudéry byly poprvé vyvinuty ve třicátých letech 20. století. Vyznačují se vynikající schopností mísit práškové materiály, tavit je a v případě potřeby je tvarovat. Hlavní výhodou dvoušroubových extrudérů oproti jednošroubovým je výrazně snadnější dávkování a transport materiálu, účinnější hnětací a dispergační schopnost, menší tendence k přehřívání a kratší rezidenční čas. Nevýhodou je složitější technické provedení, a tedy vyšší cena zařízení. [36, 41]

Dvoušroubové extrudéry jsou dostupné v několika typech v závislosti na výrobci a zamýšleném využití zařízení. Obvykle jsou oba šrouby v komoře uloženy rovnoběžně vedle sebe. [38] Hlavními typy dvoušroubových extrudérů je ko-rotací extrudér, jehož oba šrouby se v komoře otáčejí stejným směrem a dále extrudéry s protiběžnými šrouby. [37]

V průmyslu mají největší praktický význam extrudéry s ko-rotacími šrouby, které mohou být provozovány při vysokých rychlostech a dosahovat vysokého výkonu, při zachování výhod kvalitního mísení a efektivního posouvání materiálu komorou. Obecně lze říct, že se na styčných plochách šroubů s komorou méně opotřebovávají, což je způsobeno absencí tzv. vytlačovacího efektu (angl. pushing effect), který je charakteristický pro extrudéry s protiběžnými šrouby. U protiběžných šroubů je materiál vytlačován jedním směrem a tím odtlačuje šrouby na protilehlou stěnu komory, čímž se zvyšuje tření a následné opotřebení. [36] Souhlasným směrem otáčení je dosaženo zvýšené vzájemné samočistící schopnosti obou šroubů. Šrouby ko-rotací extrudérů umožňují větší variabilitu ve smyslu množství použitelných vyměnitelných segmentů, zatímco flexibilita šroubů protiběžných je v tomto ohledu mnohem skromnější. [42] Další nevýhodou extrudérů s protiběžnými šrouby je větší náchylnost k zachycování vzduchu do struktury extrudátu. [40]

### PROCESNÍ PARAMETRY

Pro nastavení stabilního, kontinuálního procesu je nutné porozumět vzájemným závislostem jednotlivých parametrů a hodnot procesu. Jednotlivé parametry a hodnoty jsou specifické pro každou konkrétní formulaci a každou konkrétní konfiguraci zařízení. Změna formulace nebo konfigurace zařízení může vyvolat odchylku od dříve naměřených hodnot. Všechny procesní parametry, které může operátor měnit - nezávisle proměnné a některé závislé hodnoty, jsou uvedeny v tabulce 1. [42]

**TABULKA 1** Procesní parametry HME. [42]

		Rychlost otáčení šroubů
	Spojité proměnné	Rychlost plnění materiálu
<b>Nezávisle proměnné</b>		Teplota komory
		Design šroubu
	Nespojitě proměnné (proměnné v krocích)	Provedení komory
		Provedení trysky
<b>Závisle proměnné</b>	Procesní parametry	Teplota taveniny
		Rezidenční čas
	Parametry popisující kvalitu produktu	Stupeň dispergace
		barva

Procesní parametry je možné rozdělit na proměnné spojité (kontinuálně) a na ty, které je možné měnit v krocích. Zjednodušeně lze říci, že spojité proměnné parametry lze nastavovat za chodu extrudéru (tj. rychlost otáčení šroubů, rychlost plnění materiálu, teplota). Zatímco pro změnu parametrů proměnných v krocích je nutné zařízení zastavit a částečně rozebrat. Vzájemné souvislosti jednotlivých parametrů jsou složité a často je obtížné odhadnout změnu závisle proměnné na základě změny relevantních procesních parametrů. Nastavení robustního procesu proto vyžaduje systematický experimentální přístup, například pomocí statisticky navrženého experimentu. [42]

Nejvýznamnějšími procesními parametry jsou: **rychlost otáčení šroubů**, rychlost plnění materiálu a teplota komory. Tyto parametry ovlivňují zejména množství přiváděné mechanické energie, rezidenční čas (doba, po kterou je materiál v komoře zařízení) a teplotu. [38] Teplota uvnitř zařízení (**teplota taveniny**) je výrazně závislá na rychlosti otáčení šroubů a dále je závislá na rychlosti plnění materiálu. Čím vyšší je rychlost otáčení šroubů, tím vyšší je teplota. Čím vyšší je rychlost plnění, tím nižší je teplota. [42] Jednou z hlavních charakteristik procesu, využívaných pro scale-up, je tzv. specifická energie (kJ/kg), která je dána součtem tepelné a mechanické energie, přenášené zařízením do materiálu. Mechanická energie, která je generována třením a stříhovým stresem otáčejících se šroubů, tvoří až 80 % specifické energie. Jen 20 % specifické energie, je tvořeno teplem, přenášeným prostřednictvím vyhřívaného pláště komory. [40] Nevhodnou kombinací parametrů - rychlosti otáčení šroubů a rychlosti plnění materiálu - je možné dosáhnout fyzikálních limitů zařízení, tj. maximálního točivého momentu, který je extrudér schopný přenést na šrouby. V takovém případě

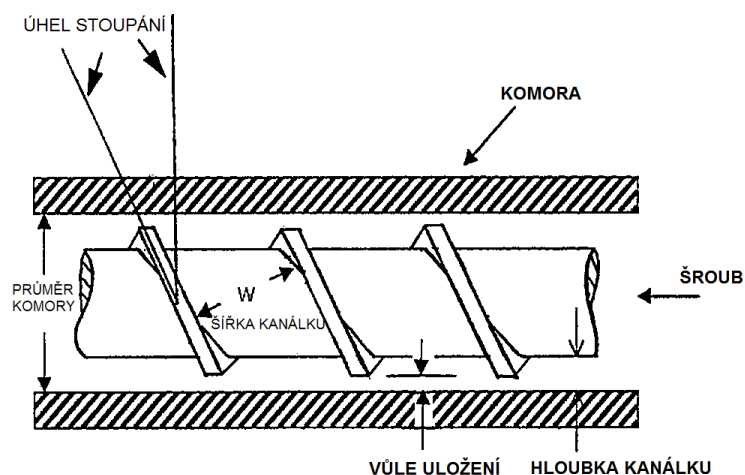
(příliš velká rychlost, příliš mnoho materiálu) dojde k zastavení procesu, resp. k zablokování zařízení. Snížení viskozity taveniny je možné dosáhnout přidáním plastifikátoru. [37, 42]

**Rezidenční čas** je možné určit například tak, že se do směsi dávkované do násypky extrudéru přidá malé množství barviva. Poté se měří doba, po kterou trvá, než z trysky začne vycházet obarvený produkt. [38] Rezidenční čas je ovlivněn zejména **rychlostí plnění materiálu**. [42] Částečně také rychlostí otáčení šroubů a viskozitou taveniny. [43] Čím vyšší je rychlost plnění materiálu a rychlost otáčení šroubů, tím kratší je rezidenční čas a tím větší je točivý moment. Zvýšením teploty komory je možné, vlivem snížené viskozity taveniny, snížit točivý moment. [38] Obvykle se rezidenční čas pohybuje v rozmezí od 5 sekund do 10 minut, záleží na L/D poměru (poměr délky a průměru šroubů) konkrétního extrudéru. [36] Je žádoucí zvolit rezidenční čas dostatečně dlouhý na to, aby byl materiál dostatečně roztavený a homogenní, a zároveň ne příliš dlouhý, aby nedocházelo k degradaci materiálu teplem a mechanickým namáháním. [42]

**Teplotu komory** je obvykle možné nastavit v rozmezí od laboratorní teploty do maximálně 250 °C v závislosti na typu/výrobci zařízení. Procesní teplota závisí na chemické stabilitě a fyzikálních vlastnostech polymeru, resp. složek zpracovávaného materiálu (tj. teplota skelného přechodu, viskozita taveniny, molekulová hmotnost, teplota tání – pro semikrystalické polymery, resp. krystalická aditiva, resp. účinné látky). Vysoká teplota a navíc působení mechanické energie může způsobit lámání polymerních řetězců, chemickou depolymerizaci, nebo termální degradaci. [39] Z toho důvodu je nastavenou teplotu třeba vhodně optimalizovat (tj. nastavit tak, aby měl zpracovávaný materiál vhodnou viskozitu, ale zároveň nebyla překročena teplota při které začíná degradovat nejméně stabilní komponenta směsi). Teplota komory zařízení v tavící zóně se obvykle nastavuje na hodnotu přibližně 30-60 °C nad teplotou skelného přechodu (pro amorfní polymery), resp. nad teplotu tání pro semikrystalické polymery. [36, 37]

Mezi parametry zařízení nastavitelné v krocích, které mohou ovlivnit kvalitu produktu, resp. průběh procesu je možné zařadit: design šroubu vč. jeho konfigurace a provedení trysky (tvar, resp. plocha průřezu). [37, 39]

**Design šroubu** má signifikantní vliv na efektivitu procesu hot-melt extruze. Pro popis geometrie šroubu se používá několik parametrů (viz obrázek 2). [36] Geometrie šroubu se obvykle liší podle zóny, resp. funkce (viz výše). Například šroub pro posun materiálu (dopravníková zóna) má hluboký kanálek.



**OBRAZEK 2** – Design šroubu, popisné parametry. [36]

Výkon dopravníkové části šroubu závisí na koeficientu tření zpracovávaného materiálu na povrchu šroubů a komory. Zatímco větší tření na vnitřní stěně komory zajišťuje posun materiálu směrem k trysce, tření na povrchu šroubů pohybu materiálu kupředu brání. Čím vyšší je koeficient tření na vnitřní stěně komory a čím nižší je tření na povrchu šroubů, tím efektivnější je transfer materiálu dopravníkovou zónou extrudéru. Vliv na rychlost průchodu materiálem má také sypná hustota, tvar částic a kompresibilita zpracovávaného materiálu. [36]

To, jak rychle materiál vytéká z trysky zařízení, je velmi závislé na hloubce kanálku a délce odvzdušňovací části šroubu (metering zone). Kanálek této části šroubu je obvykle mělký. [37]

Součástí šroubů mohou být různé hnětací a mísící segmenty, které mohou významně ovlivnit krystalinitu, homogenitu, eventuálně disoluční vlastnosti pevné disperze vyrobené hot-melt extruzí. Hnětací segmenty mohou vedle hnětení materiálu také prodloužit retenční čas. Jejich použitím je také možné docílit supersaturované pevné disperze. [37]

Další veličinou týkající se šroubů je jejich průměr, který určuje výrobní kapacitu zařízení. Extrudéry určené pro pilotní výrobu mají obvykle šrouby o průměru 18-27 mm. Výrobní extrudéry mají průměr šroubů např. 60 mm. Dvojnásobný rozdíl v průměru šroubu může znamenat až 10násobné zvýšení výrobní kapacity. [36, 41]

**Provedení trysky** (její tvar) určuje, jaký tvar bude mít vytlačovaný extrudát. Průřez extrudátu se obvykle po průchodu tryskou zvětšuje. Tento jev (tzv. die swelling – bobtnání na trysce) je způsoben relaxací elastických deformací taveniny polymeru způsobených kompresním působením šroubu uvnitř komory. [37]

#### VYUŽITÍ HOT-MELT EXTRUZE VE FARMACII

Rostoucí zájem o technologii HME ve farmacii je patrný z vysokého počtu patentů a publikací, týkajících se tohoto tématu. HME se uplatňuje při výrobě různých



lékových forem, tvořených většinou homogenním matricovým zásobníkem účinné látky [37], jehož hlavní výhodou je signifikantně vyšší disoluční poměr v porovnání s čistou účinnou látkou, nebo fyzikální směsí účinné látky s excipienty. [44] Vyšší rozpustnost je dána povahou materiálu, který může být amorfni pevnou disperzí, může obsahovat kokrystaly [45] nebo lipidické nanočástice. [46] Technologii lze využít pro výrobu granulátu, jehož nepříjemná chuť je maskována. [35] Uvolňování účinné látky z granulátu může být řízené vhodně zvoleným polymerem. [40] Velmi výhodná je tato technologie pro výrobu pelet, která se provádí pomocí přídavného zařízení, jehož součástí je rotační nůž, který formuje pelety přímo z granulátu u ústí trysky. [40] Pelety vyrobené HME jsou unikátní v tom, že je není potřeba potahovat, pokud mají být určeny pro řízené uvolňování účinné látky. Nutnost potahové vrstvy je možné nahradit vhodnou volbou polymerního nosiče. Výhodou proti tradičnímu způsobu výroby pelet je snadnější zvětšování výrobního měřítka (scale-up). [37]

Popsána dále byla výroba implantátů. [47] Uvolňování účinné látky z implantátů je možné ovlivňovat řízenou degradací polymeru, nebo erozí, která je závislá na fyzikálních vlastnostech polymeru (tj. molekulové hmotnost, viskozitě). [44] Hot-melt extruze se dále používá pro výrobu stentů [40], tablet s okamžitým [48] i řízeným [49] uvolňování, a to s jednou účinnou látkou i kombinací více účinných látek [50], dále pro výrobu očních inzertů [51]; bioadhezivních filmů pro topické podání [52], a výrobu antikoncepčních vaginálních kroužků [44].

#### 1.1.7 CHARAKTERIZACE PEVNÝCH DISPERZÍ

Uvolňování účinné látky z pevné disperze je možné studovat pomocí standardních disolučních metod. Pro zjišťování ostatních vlastností, které popisují fyzikální stav účinných látek, její interakce s polymerním nosičem a fyzikální a chemickou stabilitu, se používá řada analytických metod. Velmi důležitý je popis krystalinity účinné látky. K tomuto účelu lze využít především termické techniky zejména: (modulovanou) diferenční skenovací kalorimetrii (mDSC). Dalšími metodami, které je pro popis krystalinity možné použít jsou prášková rentgenová difrakce (XRPD) a Ramanova spektrometrie (RS). Avšak je třeba zdůraznit, že mez detekce krystalické fáze se u všech těchto technik pohybuje okolo 1-5 %. [5, 8, 18] Termické metody (např. DSC) jsou v charakterizaci pevných disperzí nejrozšířenější a mohou sloužit i k charakterizaci molekulární mobility, krystalizačního chování a mísitelnosti komponent. [53] Další analytické techniky se používají zejména k určení chemické stability, popisu molekulárních interakcí mezi molekulou léčiva a nosiče, popřípadě krystalinity vzorku – např. infračervená spektrometrie s Fourierovou transformací (FTIR), pevnofázová nukleární magnetická resonance (ssNMR) a termogravimetrická analýza (TGA). Kvalitativně lze pevné disperze hodnotit pomocí mikroskopie – např. transmisní a

skenovací elektronové TEM, SEM), a atomové (AFM). Tyto metody mohou sloužit také k hodnocení mísitelnosti, nebo morfologie povrchu. [2, 10]

#### 1.1.8 FORMULOVÁNÍ PEVNÝCH DISPERZÍ

Amorfní pevné disperze je třeba dále zpracovat do vhodných lékových forem. Popsána byla výroba a úspěšné uvedení přípravků na trh, jejichž lékovou formou jsou kapsle, resp. tablety. Jejich výroba však není snadná. Obtíže představuje komplikované mletí a síťování, protože např. extrudát je obvykle velmi tvrdý, pevné disperze připravené odpařením rozpouštědla bývají naopak měkké a lepkavé, špatně tečou, což dále komplikuje i mísení a lisování. Literárních zdrojů, popisujících konkrétní příklady řešení problémů při vývoji lékových forem, je však dosud velmi málo. [13]

Amorfní pevné disperze nejsou vhodné pro zpracování vlhkou granulací, která by mohla narušit jejich fyzikální strukturu. Popsána byla například suchá *in-situ* granulace, při níž byla směs excipientů granulována taveninou indometacinu v PEGu 6000, zahřáté na 100 °C. Prosítovaný granulát byl při 25 °C 12 hodin dochlazován a po smísení s dalšími excipienty lisován do tablet. Hotové tablety však vykazovaly velmi dlouhou dobu rozpadu, a to i přes to, že bylo použito velké množství excipientů (506 mg excipientů na 100 mg pevné disperze obsahující 25 mg účinné látky). Tablety navíc vykazovaly výrazné stárnutí, jehož hlavním projevem byla zpomalující se disoluce. [13] Na vlastnosti tablety má výrazný vliv zejména způsob výroby, velikost částic pevné disperze a volba excipientů (především nosič a rozvolňovač). [13] Nosič v tabletě funguje jako velmi silné pojivo, které může vlivem komprese měknout, nebo dokonce roztát. Vyplňuje póry tablety, takže brání rozpadavosti, protože do ní nemůže penetrovat voda. [13]

Při výrobě tvrdých želatinových kapslí s obsahem pevných disperzí je možné postupovat tak, že se do těla tobolky přímo dává horký roztok, resp. tavenina obsahující nosič a účinnou látku. Teplota taveniny přitom nesmí přesáhnout 70 °C. [13]

### 1.2 VÝBĚR VHODNÉHO POLYMERNÍHO NOSIČE PRO PŘÍPRAVU AMORFNÍCH PEVNÝCH DISPERZÍ

Potenciál tvorby pevných disperzí jako technologického přístupu pro zvýšení rozpustnosti účinných látek zatím není v praxi plně využíván. Za jednu z hlavních příčin, která širší uplatnění pevných disperzí znesnadňuje, se považuje zejména obtížné určení rozpustnosti krystalických látek v polymerních nosičích. [14] Rozpustnost účinné látky v polymeru je velmi důležitá kvůli fyzikální stabilitě materiálu. Při teplotě skladování nesmí docházet k její rekrystalizaci. [11, 54] Některé polymery mohou nukleaci nebo růst krystalů inhibovat. [55] Pro zlepšení rozpustnosti účinné látky je nezbytné její rekrystalizaci zabránit výběrem vhodného polymerního nosiče a volbou správného poměru účinné látky ku polymeru. [42]

V odborné literatuře je popsáno mnoho metod ke zjištění rozpustnosti účinné látky, resp. její mísitelnosti s polymerem, avšak žádná z nich dostatečně jednoduchá, a snadno proveditelná. [56-59] Nalezení vhodného polymeru a určení jeho poměru s účinnou látkou je proto stále obtížné [1; 60-62] a vývoj pevných disperzí ve farmaceutickém průmyslu je tak stále obvykle řešen metodou pokus-omyl. [60]

Vzhledem k velkému množství kombinací (pro konkrétní účinnou látku a zvolený výrobní proces, X různých polymerů, Y možných poměrů), je možné počet kandidátů zahrnutých do experimentálního hodnocení snížit na únosnou mez pomocí teoretických přístupů [56, 63] založených např. na parametrech rozpustnosti [61, 62], případně na Flory-Hugginsově teorii roztoků. [61, 64, 65]

K charakterizaci amorfních pevných disperzí se ve farmacii používá řada analytických metod. Vhodným přístupem je využití kombinace technik tj. zejména spektrálních metod, XRPD, termických metod, mikroskopie, atd. [66-68]

Příkladem metody, která se ukázala jako nedostatečně spolehlivá, je metoda založená na měření poklesu teploty tání. [68] Efektivními přístupy pro hodnocení mísitelnosti účinné látky s polymery, které jsou popsány v literatuře, jsou založeny na miniaturizaci a automatizaci přípravy vzorků připravených odpařováním rozpouštědla (např. film casting, spin coating, neboli rotační roztírání) s následným vysokovýkonným (high-throughput) hodnocením disolucí. [56, 63] Popsána byla také nepřímá strategie založená na hodnocení precipitace účinné látky ze supersaturovaných pevných roztoků. [59] Jiná podobná metoda se skládá z přípravy nasycených amorfních pevných disperzí a hodnocení složení extrapolací na nulovou entalpii. [57] Jiný zdroj popisuje metodu založenou na vytvoření kalibrační přímky XRPD difraktogramu čistých komponent a několika vzorků s různým známým obsahem účinné látky. [67] Další funkční metodou je hodnocení litých filmů pomocí optické mikroskopie v polarizovaném světle. [69] Jako možná nevýhoda této metody byla autory označena možnost falešně pozitivního vyhodnocení (tj. dojem přítomnosti krystalu u amorfního vzorku) u nedokonale připravených filmů – například nečistoty, prachové částice, lomy ve struktuře filmů. Nicméně je potenciál této metody považován za relativně vysoký, jelikož jde o metodu jednoduchou a podle autorů také citlivější, než DSC. Stejnou metodu popisuje ve svých materiálech také firma BASF, jeden z předních dodavatelů polymerů nejen pro hot-melt extruzi. [38] Další podobná metoda pro zjištění vhodného polymeru pro tvorbu pevné disperze, je založena na hodnocení přítomnosti krystalu u vzorků připravených rotačním roztíráním (spin coating) pomocí optické mikroskopie v polarizovaném světle. [70]

Velmi účinným nástrojem vhodným pro vývoj a hodnocení lékových forem je chemické mapování, které v sobě kombinuje jak informaci o distribuci složek, tak informaci o molekulové struktuře i krystalové modifikaci složek obsažených v hodnoceném vzorku. Popsáno bylo mnoho různých aplikací mapovacích technik ve farmacii. [71-87] Z hlediska pevných disperzí je nejdůležitější především schopnost kvantifikovat krystalinitu [59] a odhalit fázovou separaci. [88] Klíčovou výhodou

Ramanovy spektrometrie je také schopnost charakterizovat oblast nízkých vlnočtů, která je extrémně citlivá na rozdíly mezi amorfními a krystalickými formami. Mapování pomocí Ramanovy spektrometrie může dosáhnout rozlišení až na úroveň pod 1 mikron, zatímco infračervené mapování dosáhne rozlišení maximálně 1-2  $\mu\text{m}$ . Avšak rozlišení běžně dosahované v praxi je obvykle kolem 4  $\mu\text{m}$ . [81] Bylo prokázáno, že technika mapování pomocí Ramanovy spektrometrie, je pro detekci fázové separace u systémů, které nemají detekovatelný skelný přechod, citlivější, než kalorimetrie. [84]

### 1.3 VLIV METODY PŘÍPRAVY NA KVALITU PEVNÝCH DISPERZÍ

Vedle výběru vhodného polymeru a jeho množství je dalším faktorem, který výrazně ovlivňuje typ (resp. krystalinitu a potažmo rozpustnost) a také fyzikální stabilitu vytvořené pevné disperze, metoda použitá pro zpracování výchozí směsi. [89] Spolu s obtížným výběrem polymeru je to často také problematické zpracování v průmyslovém měřítku, které brání masovému rozšíření a využití pevných disperzí. [4, 90]

Jak již bylo popsáno výše, pevné disperze se připravují jednak metodami založenými na odpařování rozpouštědla a jednak metodami tavíci. [5, 7] U tavících metod je krystalická mřížka rozložena působením vysoké teploty a mechanického namáhání. Amorfizace provedená tímto způsobem může být nekompletní, ve směsi mohou zůstat krystalizační jádra, nebo dokonce malé krystaly, což může vést k rychlejšímu nastartování krystalizace v produktu. U metod s použitím rozpouštědla je obvykle krystalická struktura rozložena úplně, avšak k rekrytalizaci může docházet účinkem zbytkových rozpouštědel, které mohou zvyšovat molekulární mobilitu a usnadnit tak agregaci částic. [91]

Kromě krystalinity je disoluční chování amorfních pevných disperzí ovlivněno mnoha dalšími faktory, jakými jsou typ polymeru, poměr účinné látky k polymernímu nosiči a rozsah interakcí mezi účinnou látkou a polymerním nosičem nebo rozpustností a smáčivostí složek pevné disperze. [90, 92, 93]

Popis toho, jakým způsobem použitá metoda ovlivňuje disoluční chování materiálu, se v odborné literatuře obvykle omezuje na porovnání připraveného vzorku s nějakým referenčním materiálem. Literatura se obvykle důkladně nezaměřuje na další faktory, které mohou mít na disoluční chování vliv. Příkladem je srovnání rozpustnosti disperzí připravených sprejovým sušením a pomocí kuličkového mlýnu. Materiál připravený sprejovým sušením se i přes to, že jeho částice byly menší, rozpouštěl pomaleji. Autoři rozdíly v rozpustnosti připsali vyšší povrchové energii částic, která vyústila v jejich agregaci. [94] Další autorský kolektiv porovnával rozpustnost pevných disperzí připravených různými metodami založených na odpařování rozpouštědla. [7] Rozdíly v rozpustnosti byly přisouzeny odlišné velikosti částic, hodnotě kontaktního úhlu mezi roztoky polymerních nosičů a obsaženou účinnou látkou a krystalinitě účinné látky v připravených vzorcích. Rozdílná morfologie částic, krystalinita a rozpustnost byla v jiné

práci vysvětlena odlišným mechanismem tvorby částic pevné disperze vznikající odpařováním rozpouštědla při mrazovém sušení a metodou srážení při použití rozpouštědla v superkritickém stavu. [3, 95]

Přímé porovnání materiálů připravených hot-melt extruzí a koprecipitací bylo předmětem zkoumání další práce. [31] Zde autoři popsali stejná spektra, XRPD difraktogram, skutečnou hustotu a dynamickou sorpci par (DVS), ale mnohem větší specifický povrch koprecipitovaného materiálu, který vedl k mnohem rychlejšímu uvolňování účinné látky. Jiná podobná práce prezentovala porovnání charakteristik hot-melt extrudátu a sprejově usušené pevné disperze. [96, 97] Oba materiály se lišily specifickým povrchem, hustotou a tokovými vlastnostmi, zatímco interakce mezi účinnou látkou a polymerním nosičem byly považovány za srovnatelné. Závěr, ke kterému autoři došli, byl, že materiály s podobnou rozpustností lze získat, pokud jsou jejich fyzikální vlastnosti podobné. Připravené vzorky pevných disperzí se však v závislosti na zmíněných fyzikálních vlastnostech mohou podle autorů lišit fyzikální stabilitou (tj. mírou rekrytalizace účinné látky z amorfni pevné disperze, blíže viz 1.1.1). Sprejově usušený materiál byl totiž ve srovnání s extrudátem méně stabilní. Vlastnosti související s fyzikální stabilitou však nejsou ve zmíněných článcích detailněji popsány. [96, 97] Jiná studie, porovnávající tři různé metody přípravy pevných disperzí ukázala, že metoda použitá pro přípravu pevného roztoku má vliv na chemickou stabilitu obsažené účinné látky, zatímco fyzikální stabilitu ovlivňuje minimálně. [33]

Z uvedeného je patrné, že způsob, jakým je pevná disperze připravena ovlivňuje chování získaného materiálu. Přes četné publikace, zabývající se vlivem použité metody na vlastnosti pevných disperzí, jsou závěry v této oblasti spíše rozporuplné a nejednoznačné.

## 1.4 MULTIVARIAČNÍ DATOVÁ ANALÝZA (MVDA)

Soubory dat, získané na mnoha vzorcích, v mnoha časových bodech, lišící se mnoha proměnnými jsou multivariační (vícerozměrné). Multivariační data obsahují mnohem větší množství informací než data lišící se jednou proměnnou, a je proto nutné pro jejich interpretaci volit adekvátní metody. Jedním ze způsobů, jak informacím obsaženým ve složitém souboru dat porozumět je grafická vizualizace. K tomuto účelu slouží řada tzv. exploratorních technik – například analýza hlavních komponent (Principal component analysis, PCA). [98] PCA je statistická technika založená na identifikaci vektoru (tzv. hlavní komponenta) ve vícerozměrném prostoru (počet rozměrů tohoto prostoru odpovídá počtu sledovaných proměnných), v němž se data nejvíce liší. Určený vektor reprezentuje soubor pozorování v prostoru zjednodušeném na méně rozměrů (např. v souřadné soustavě). První hlavní komponenta je tedy vektorem proloženým proměnnou s největší proměnlivostí.

Druhá (a každá další) hlavní komponenta je na první (resp. předešlou) komponentu kolmá. Souřadnou soustavu (uvažuje první dvě hlavní komponenty) je potom možné považovat za model, který ve dvou rovinách popisuje vícerozměrnou realitu – tj. soubor dat ve vícerozměrném prostoru, kde počet rozměrů je dán počtem proměnných. Grafickým vyjádřením tohoto zjednodušeného modelu je tzv. score plot (graf komponentního skóre). V tomto zobrazení jsou každému z pozorování přiřazeny souřadnice, které odpovídají rozměru v původním N-rozměrném prostoru, promítnutém do prostoru reprezentovaného hlavními komponentami. [99]

Exploratorní techniky se používají pro zjednodušení komplexních dat (nejen ve farmacii) a pro jejich snadnější vizualizaci. Umožňují klasifikaci vzorků, identifikaci trendů, odlehlých bodů, případně predikci výstupu v rámci modelovaného prostoru. [100]

## 1.5 STATISTICKY NAVRŽENÝ EXPERIMENT (DOE)

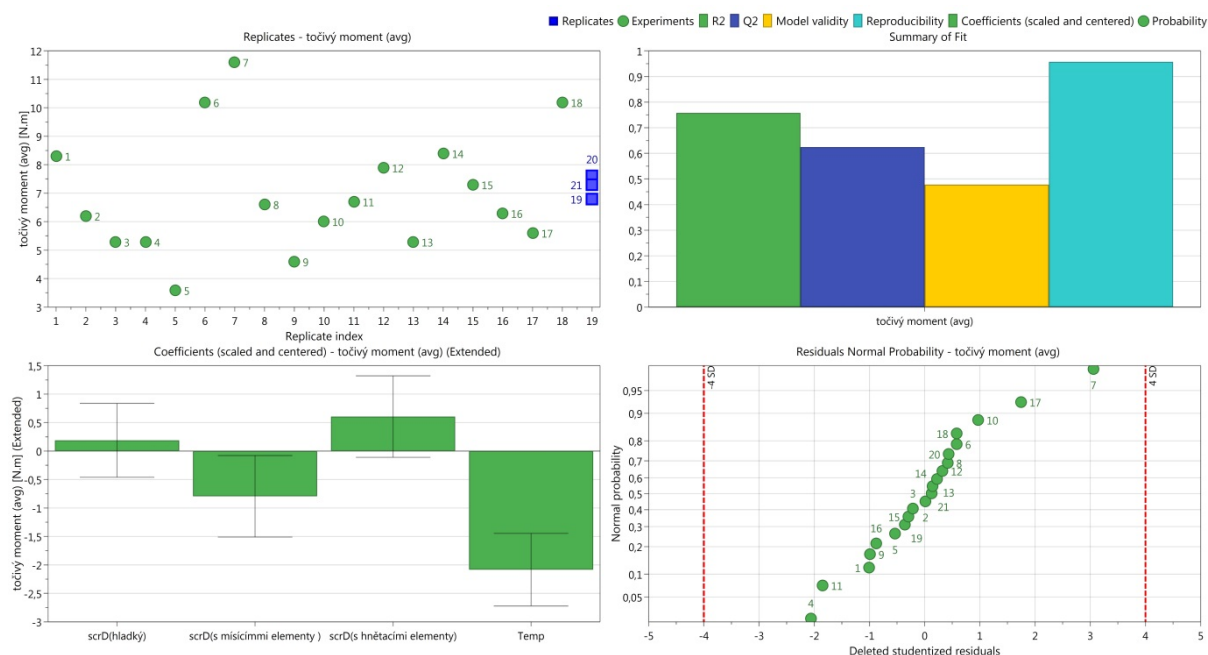
Statisticky navržený experiment (Design of experiment, DoE) je sada systematicky zvolených experimentů, v nichž jsou všechny relevantní parametry měněny současně (na rozdíl od tradičního přístupu – 1 parametr/1 experiment). Sada obvykle čítá 10-20 dílčích experimentů a analýzou jejich výsledků (resp. všech sledovaných odezev) je možné zjistit způsob, jakým konkrétní parametr (případně kombinace parametrů) ovlivňuje výsledek, případně odhadnout optimální kombinaci zkoumaných parametrů, jíž bude kýžený výsledek dosažen. [101, 102]

Účelem této kapitoly není poskytnout vyčerpávající definice a matematická vysvětlení všech statistických nástrojů, použitých při sestavování matematického modelu v použitém softwaru (Modde), nýbrž uvést jednoduchá vysvětlení, potřebná k základnímu porozumění, interpretaci a kritickému zhodnocení dat získaných v praktické části. Touto filozofií je veden i princip fungování programu Modde, který umožňuje jednoduchým způsobem (tj. bez nutnosti hlubších znalostí statistiky) porozumět relativně složitým, statisticky navrženým experimentům.

### 1.5.1 HODNOCENÍ NEZPRACOVANÝCH DAT (REPLICATE PLOT)

Pomocí grafu replikací (replicate plot; nahoře vlevo na obrázku 3) je možné posoudit nezpracovaná data. Graf replikací je grafickým vyjádřením vztahu naměřených hodnot sledované odezvy (osa y) a číslem konkrétního experimentu (osa x). Zelené body odpovídají sledované odezvě pro každou z nastavených kombinací parametrů (tj. dílčím experimentům) sledovaných ve statisticky navrženém experimentu. Modré body reprezentují výsledky tří opakování pro totožné nastavení faktorů (středové body). Pokud jsou rozdíly mezi jednotlivými středovými body výrazně menší, než je variabilita mezi výsledky pro jednotlivé dílčí experimenty, není model ovlivněn chybou, která by byla způsobena variabilitou např. v měření nebo ve způsobu výroby. Posouzení rozdílů

mezi opakováními se souborem ostatních výsledků získaných ve statisticky navrženém experimentu je minimálním požadavkem pro zhodnocení nezpracovaných dat použitých pro vytvoření modelu. [101]



**OBRAZEK 3** Graficky vyjádřený přehled parametrů pro hodnocení modelu – příklad.

### 1.5.2 DIAGNOSTIKA REGRESNÍHO MODELU (SUMMARY OF FIT PLOT)

Základní diagnostika matematického modelu vychází v softwaru Modde ze souhrnného grafu (the summary of fit plot – vpravo nahoře na obrázku 3). Jeho součástí jsou čtyři sloupce, které graficky vyjadřují hodnotu čtyř diagnostických parametrů.

Pro hodnocení kvality regresního modelu jsou nejčastěji používány 2 základní parametry: koeficient determinace ( $R^2$ , goodness of fit) a korelační koeficient ( $Q^2$ , goodness of prediction). Je nutné uvažovat oba parametry modelu společně, protože každý zvlášť neposkytuje dostatečnou informaci o kvalitě modelu.  $R^2$  je míra, kterou regresní model vystihuje naměřená data. Parametr  $R^2$  nabývá hodnot od nuly do jedné, čím větší je hodnota, tím lépe model naměřená data vystihuje.  $Q^2$  je odhadovaná míra prediktivní síly modelu a nabývá hodnot od mínus nekonečno do plus jedné. Zjednodušeně je možné říct, že pokud je hodnota větší než 0,5, je model dobrý, a pokud větší než 0,9, je model vynikající. Čím je hodnota  $R^2$  a  $Q^2$  vyšší, tím lepší model je. Pro dobrý model zároveň platí, že rozdíl obou hodnot by neměl být vyšší než 0,2-0,3. Pokud je rozdíl výrazně vyšší než uvedená hodnota, není model v pořádku. [101]

Dalším parametrem, který je v softwaru Modde používán pro popis kvality regresního modelu, je tzv. platnost modelu (model validity), jenž vyjadřuje vhodnost použitého modelu (lineární, interakční, kvadratický apod.) pro řešení daného problému. Čím vyšší je hodnota platnosti modelu, tím lépe model naměřená data vystihuje. Model je platný, pokud je hodnota vyšší než 0,25 (no lack of fit). Je-li hodnota nižší, je třeba



zkontrolovat možné příčiny (distribuce odezev neodpovídá normální distribuci; body v diagramu reziduí nelze proložit přímkou – jsou výrazně zakřivené; velká replikační chyba; odlehlé experimenty). [101]

Posledním parametrem přednastaveným v softwaru Modde pro rutinní hodnocení kvality modelu je reprodukovatelnost (reproducibility). Reprodukovatelnost je číselným vyjádřením šumu (replikační chyby). Čím vyšší je hodnota reprodukovatelnosti, tím menší je replikační chyba modelu. Pokud je tato hodnota menší než 0,5, není experimentální postup pod kontrolou a chyba modelu vysoká. [101]

Poslední dva zmíněné parametry (platnost a reprodukovatelnost) jsou v softwaru dostupné jen v případě, že jsou dostupné výsledky replikačních experimentů (opakování středových bodů). [101]

### 1.5.3 INTERPRETACE MODELU (COEFFICIENT PLOT)

Pokud parametry matematického modelu splňují kritéria popsaná výše (model je kvalitní), je možné přistoupit k jeho interpretaci. K tomuto účelu slouží diagram koeficientů (coefficient plot – viz např. obrázek 3 vlevo dole). Kvalitu modelu je možné zvýšit odstraněním nesignifikantních parametrů (tj. ty, u kterých konfidenční interval prochází nulou). [101] Vliv pozitivních faktorů je přímo úměrný sledované odezvě, negativní faktory mají vliv úměrný nepřímo. Čím větší je hodnota každého z faktorů, tím výraznější vliv má daný faktor na sledovanou odezvu.

### 1.5.4 IDENTIFIKACE ODLEHLÝCH BODŮ (NORMAL PROBABILITY PLOT OF RESIDUALS)

Posledním ze základních nástrojů softwaru Modde pro diagnostiku modelu je normální diagram reziduí (Normal probability plot of residuals), pomocí něhož je možné vyhledat v souboru dat experimenty, které vybočují, jsou tzv. odlehlé (outliers). Příklad takového diagramu je na obrázku 3 vpravo dole, na ose y je normální pravděpodobnost distribuce reziduí, na ose x jsou relativní směrodatné odchylky reziduí.

Body, které nejsou v blízkosti přímky (pomyslně) proložené většinou bodů, jsou potenciálně odlehlými body a je nutné je blíže prověřit. Pro vytvoření hodnotného normálního diagramu reziduí (smysluplné proložení přímkou) je potřeba alespoň 12-15 experimentů.

Dalším pomocným kritériem při identifikaci odlehlých bodů může být hodnota relativní směrodatné odchylky (RSD). Experiment, jehož hodnota RSD je  $\pm 4$ , je možné považovat za statisticky signifikantní odlehlý bod a může být z modelu odstraněn. K vylučování odlehlých bodů je však nutné přistupovat obezřetně a je vždy třeba ho náležitě odůvodnit. Experimenty, jejichž RSD je méně než 3, jsou v pořádku a měly by



zůstat součástí modelu. Body, ležící v rozmezí  $RSD \pm 3$  až  $\pm 4$  vyžadují zvýšenou pozornost, protože jsou potenciálně odlehlé. K vyloučení každého odlehlého bodu z modelu je potřeba přistupovat obezřetně. Nejlepším přístupem je sporný experiment provést/zanalyzovat znovu. [101]

## 2. CÍLE PRÁCE

Cíle dizertační práce lze rozdělit na tři hlavní okruhy:

1. Nalézt postup k výběru vhodného polymerního nosiče jako hlavní složky pevné disperze pro konkrétní účinnou látku tak, aby bylo dosaženo pevného roztoku. Popsat výhody a nevýhody spojené s konkrétním zvoleným postupem.
2. Ověřit a popsat vliv dostupných metod tvorby pevných disperzí z hlediska kvantifikovatelných vlastností produktů a nalézt nejvýznamnější z nich pro uvolňování účinné látky.
3. Popsat vliv jednotlivých výrobních parametrů konkrétního zařízení (ThreeTec ZE 12) pro hot-melt extruzi na průběh procesu zpracování a na kvalitu získaného produktu.

Díličími úkoly v tomto kontextu jsou:

- Identifikace procesních parametrů a volitelných částí použitého zařízení, které mají významný vliv na kvalitu produktu, resp. průběh procesu.
- Systematický popis vlivu vyměnitelných částí a procesních parametrů nastavitelných na konkrétním zařízení (pro popis zařízení viz obrázek 1) pro hot-melt extruzi.
- Nalezení možných vzájemných souvislostí jednotlivých procesních parametrů.

### 3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

První část dizertační práce se zaměřuje na **vývoj metody pro výběr polymerního nosiče, resp. zjištění vhodného poměru s účinnou látkou (kap. 3.1)** tak, aby vznikla amorfní pevná disperze. Další část práce je zaměřena na **zjištění vlivu metody použité pro přípravu pevné disperze na kvalitu a vlastnosti získaného materiálu (kap. 3.2)**. Poslední úsek je tvořen systematickým přístupem ke **zjištění procesních parametrů hot-melt extruze** (jeden z nejvhodnějších přístupů pro výrobu pevných disperzí), **jejichž vliv je klíčový z hlediska kvality produktu a průběhu procesu (kap. 3.3)**.

#### 3.1 VÝBĚR POLYMERU A ZJIŠTĚNÍ VHODNÉHO POMĚRU ÚČINNÉ LÁTKY A POLYMERNÍHO NOSIČE

##### 3.1.1 MATERIÁLY A METODY PRO PŘÍPRAVU PEVNÝCH DISPERZÍ

Jako hydrofilní nosiče pro přípravu pevných roztoků byly v tomto experimentu použity tři různé polymery: Soluplus®, Kollidon VA64 a Povidone K30, všechny ze stejného zdroje (BASF, Ludwigshafen, Německo). Modelovým léčivem byl zvolen dabigatran etexilát (Zentiva, Praha, Česká republika). Jako rozpouštědlo byl v experimentu použit ethanol 96% (v/v). Všechny látky byly farmaceutické kvality a splňovaly požadavky lékopisu (Ph.Eur.).

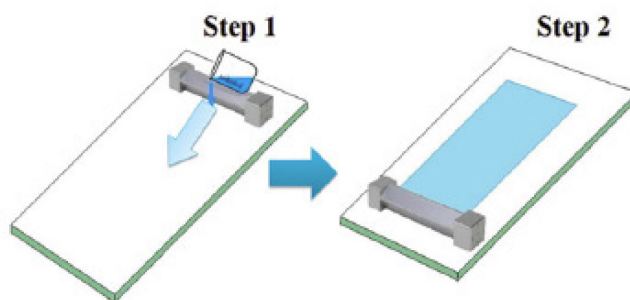
##### ROZTOKY PRO PŘÍPRAVU PEVNÝCH DISPERZÍ

Pro přípravu pevných disperzí byly použity směsi polymerů (Kollidon VA64, Povidon K30 a Soluplus) s účinnou látkou (dabigatran etexilát) v hmotnostních poměrech 1:9, 1:3, 1:1 a 1:3. Množství 5 g od každé směsi API:polymer bylo při laboratorní teplotě rozpouštěno v 75 g ethanolu (96 % v/v).

Připravený čirý roztok byl použit pro přípravu pevných disperzí třemi různými metodami (metoda litých filmů, odpařování rozpouštědla a sprejové sušení).

##### METODA LITÝCH FILMŮ (FILM CASTING)

Přibližně 2 až 3 ml od každého z roztoků pro přípravu pevných disperzí bylo pomocí speciálního stěrače dodávaného pro účel přípravy litých filmů firmou BASF (viz obrázek 4) nanášeno v tenké vrstvě každý na jednu skleněnou desku. Desky s nanášeným filmem byly ponechány na laboratorním stole (kontrolované podmínky, teplota do 25 °C, vlhkost do 40% rH) do úplného odpaření ethanolu (přibližně 3 dny). Nanášení filmů (tzv. metoda film casting) je schematicky znázorněna na obrázku 4.



**OBRÁZEK 4** Nanášení polymerního filmu na skleněnou desku (film casting). [69]

#### **METODA ODPAŘOVÁNÍ ROZPOUŠTĚDLA**

10 ml od každého z připravených roztoků bylo jednotlivě vloženo na Petriho misku. Petriho misky byly ponechány na laboratorním stole (v laboratoři s kontrolovanými podmínkami, teplota do 25 °C, vlhkost do 40% rH) do úplného odpaření ethanolu (přibližně 1-2 týdny).

#### **METODA SPREJOVÉ SUŠENÍ**

Přibližně 50 ml od každého z roztoků bylo použito pro přípravu pevných disperzí pomocí zařízení Büchi Mini spray dryer B-290. Sprejová sušárna byla nastavena následujícím způsobem: aspirator (odsávání) 85 %, čerpadlo 25 %, teplota procesního plynu (dusík) 88 °C, teplota vymrazovací smyčky -15 °C.

### **3.1.2 ANALYTICKÉ METODY**

#### **MODULOVANÁ DIFERENČNÍ SKENOVACÍ KALORIMETRIE**

DSC měření byla provedena na zařízení Discovery DSC (TA Instruments, USA). Jednotlivé vzorky byly naváženy (3 až 5 mg) do hliníkových kelímků s víčkem (40 µL). Měření probíhalo pod dusíkovou ochrannou atmosférou. Měření bylo provedeno v rozsahu teplot od 0 do 200 °C s teplotním gradientem 5 °C/min (amplituda = 0,8 °C, perioda = 60 s). Výsledky DSC měření jsou uvedené jako teploty vrcholu píku měření (T<sub>peak</sub>), resp. teplota počátku (Tonset) píku pro krystalickou formu a pro teplotu skelného přechodu (T<sub>g</sub>) pro amorfni formu. Enthalpie je uváděna v J/g.

#### **MAPOVÁNÍ POMOCÍ RAMANOVY SPEKTROMETRIE**

Mapy filmů byly sbírány disperzním Ramanovým spektrometrem InVia Reflex (Renishaw, GB), s 50x objektivem s excitační laserovou jednotkou 785 nm. Každé spektrum bylo akumulováno 0,1 s. Každá mapa sestává z více než 110000 spekter sbíraných s krokem 2,8 µm, tj. analyzovaná plocha byla přibližně 1 x 1 mm.

## MAPOVÁNÍ POMOCÍ INFRAČERVENÉ SPEKTROMETRIE

Mapy vzorků v infračervené oblasti byly získány v reflexním uspořádání spektrometrem iN10MX (Thermo, USA) vybaveným MCT detektorem, chlazeným dusíkem. Každé spektrum bylo získáno akumulací jednoho skenu se spektrálním rozlišením  $16\text{ cm}^{-1}$ . Více než 40000 spekter s krokem  $30\text{ }\mu\text{m}$  bylo použito pro vytvoření jednotlivých map, tj. analyzována byla plocha  $6 \times 6\text{ mm}$ .

## NUKLEÁRNÍ MAGNETICKÁ REZONANCE

$^{13}\text{C}$  cross polarized – Magic Angle Spinning pevnofázová NMR spektra byla získána pomocí spektrometru Bruker 400 WB (Bruker Biospin, GmbH, Německo) ve 4 mm rotorech s frekvencí otáčení 13 kHz. Množství skenů bylo v rozmezí 1000 – 5000 s kontaktním časem 2 ms, s opakovacím časem 5 s a šířkou spekter 300 ppm.

## 3.2 VLIV METOD PŘÍPRAVY NA VLASTNOSTI PEVNÝCH DISPERZÍ

### 3.2.1 MATERIÁLY A METODY PRO PŘÍPRAVU PEVNÝCH DISPERZÍ

Jako hydrofilní nosič pro přípravu pevných roztoků byl v tomto experimentu použit kopolymer Soluplus® (BASF, Ludwigshafen, Německo). Modelovým léčivem byl zvolen febuxostat (Zentiva, Praha, Česká republika).

Obě látky byly farmaceutické kvality a pro účely experimentu byly smíseny v poměru 1:2 (m/m) s převahou polymerního nosiče. Připravená směs byla po předchozím síťování (síťo s velikostí ok 1,00 mm) v množství po 500 g homogenizována ve tří-dimenzionálním mísiči Turbula T50A. Tato směs byla použita pro přípravu pevných disperzí popsaných dále a také jako samostatný vzorek hodnocený v experimentu v podobě prosté **fyzikální směsi**.

Stejná směs (febuxostat:Soluplus 1:2 m/m) byla také použita pro přípravu roztoků pro metody založené na principu odpařování rozpouštědla. Složení těchto roztoků bylo febuxostat:Soluplus:ethanol (1:2:18, m/m). Vzorky obsahovaly ethanol 96 % v/v (Ph.Eur.). V některých metodách (materiál HME s následnou expozicí ethanolickými parami) byl ethanol naředěn vodou na injekci (Ph.Eur.).

Všechny pevné disperze byly po přípravě manuálně prosítovány pomocí síta s velikostí ok 250 µm a uchovávány v uzavřených skleněných lékovkách.

#### HOT-MELT EXTRUZE (HME)

Pro přípravu vzorků byl použit dvoušroubový ko-rotační mini extruder Three-Tec ZE 12 (ThreeTec, Švýcarsko) osazený komorou s pěti oddělenými segmenty, z nichž každý je možné zvlášť temperovat elektrickými topnými tělesy, případně chladit tlakovým vzduchem. Materiál byl do extruderu dávkován gravimetricky pomocí dvoušroubového dávkovače Three-Tec ZD 9 FB-C-1M-80 (ThreeTec, Švýcarsko). Na zařízení byly nastaveny následující parametry: rychlost plnění 300 g/h, otáčky šroubů 100 / min, průměr trysky 1,5 mm, teplota komory v jednotlivých segmentech ve směru od plnicího otvoru k trysce 100/135/135/135/135 °C.

#### METODA TAVENÍ S ŘÍZENÝM OCHLAZOVÁNÍM (FUSION, SC)

Přibližně 5 g směsi účinné látky s polymerem bylo umístěno mezi dvě hliníkové misky na plochu míchadla vyhřívaného na 180 °C (míchačka Heidolph Hei End). Hliníkové misky přesně přiléhající jedna na druhou byly (v rukavicích) ručně přitlačeny k sobě a otáčivým pohybem bylo vytvářeno smykové namáhání. Po 10 minutách ohřívání mezi otáčejícími se miskami byl materiál společně s miskami rychle přemístěn do sušárny nastavené na postupný pokles teploty ze 180 °C na 30 °C s rychlostí ochlazování 30 °C za

hodinu. Získaný materiál byl dále upraven síťováním podle popisu v odstavci složení a použité materiály.

#### **METODA TAVENÍ BEZ ŘÍZENÉHO OCHLAZOVÁNÍ (FUSION, BC)**

Materiál byl připraven stejným způsobem, který je popsán v předcházejícím odstavci, lišila se jen způsobem ochlazování vzorku. Ten byl po 10 min přemístěn z vyhřívané plochy míchadla na laboratorní stůl, kde byl volně ponechán (při laboratorní teplotě) do vychladnutí. Získaný materiál byl dále upraven síťováním podle popisu v odstavci 3.2.1.

#### **METODA TAVENÍ S OKAMŽITÝM OCHLAZOVÁNÍM (FUSION, FC)**

Materiál byl připraven stejným způsobem, který je popsán v odstavci 0. Příprava se lišila způsobem ochlazování vzorku. Ten byl po 10 min přemístěn z vyhřívané plochy míchadla do nádoby s tekutým dusíkem, kde byl úplně ponořen cca na 1 min. Další zpracování vzorku (síťování) probíhalo způsobem pospaným v odstavci 3.2.1.

#### **METODA HME S EXPOZICÍ PRODUKTU PARÁM 3% ETHANOLU (HME + 3 % EtOH)**

Nálevka byla pomocí těsnící zátky s otvorem vložena do hrdla Erlenmayerovy baňky, obsahující směs vody s ethanolem (100 g 3% m/m roztoku ethanolu). Přes nálevku byla umístěna jemná nerezová síťovina, na kterou byla lžičkou opatrně nanесena tenká vrstva (cca 3 mm) materiálu získaného extruzí. Celá tato aparatura byla umístěna na vyhřívanou plochu míchačky nastavené na teplotu 150 °C. Po 30 minutách byl materiál ze síťoviny sejmут, rozlámán ve třecí misce a prosítován. Materiál byl dále přesunut na Petriho misku a vložen do digestoře, kde byl ponechán při laboratorní teplotě cca 3 dny.

#### **METODA HME S EXPOZICÍ PRODUKTU PARÁM 15% ETHANOLU (HME + 15 % EtOH)**

Způsob přípravy tohoto vzorku se shodoval s tím, který je uvedený v předchozím odstavci, avšak za použití 15% m/m ethanolového roztoku.

#### **METODA HME S EXPOZICÍ PRODUKTU PARÁM 70% ETHANOLU (HME + 70 % EtOH)**

Způsob přípravy tohoto vzorku se shodoval s tím, který je uvedený v předchozích dvou odstavcích, avšak za použití 70% m/m ethanolového roztoku.

### **SPREJOVÉ SUŠENÍ (SD)**

Přibližně 50 g roztoku, jehož příprava je popsána v odstavci 3.2.1, bylo použito pro zpracování pomocí sprejové sušárny Büchi Mini spray dryer B-290. Sprejová sušárna byla nastavena následujícím způsobem: aspirator (odsávání) 80 %, čerpadlo 20 %, teplota procesního plynu (dusík) 90 °C, teplota vymrazovací smyčky – 15 °C.

### **METODA ODPAŘOVÁNÍ ROZPOUŠTĚDLA (SE)**

Přibližně 50 g roztoku, jehož příprava je popsána v odstavci 3.2.1, bylo vloženo na Petriho misku a ponecháno volně na stole v laboratorních podmínkách (přibližně 25 °C) do úplného odpaření rozpouštědla (přibližně 2 týdny).

### **METODA ODPAŘOVÁNÍ ROZPOUŠTĚDLA PŘI ZVÝŠENÉ TEPLOTĚ (SE AT 50 °C)**

Způsob přípravy tohoto vzorku se shodoval s tím, který je uvedený v předchozím odstavci s tím rozdílem, že Petriho miska s roztokem byla umístěna do sušárny nastavené na 50 °C, kde byla ponechána do úplného odpaření rozpouštědla (tj. přibližně 1 týden).

### **PŘÍPRAVA PEVNÝCH DISPERZÍ POMOCÍ ROTAČNÍ VAKUOVÉ ODPARKY (RVE)**

Přibližně 50 g roztoku, jehož příprava je popsána v odstavci 3.2.1., bylo použito pro zpracování pomocí rotační vakuové odparky při 45 °C a 20 mbar. Následně byl materiál vyjmut a dosušen v sušárně při 40 °C po dobu 4 hodin.

## **3.2.2 ANALYTICKÉ METODY POUŽITÉ PRO CHARAKTERIZACI PEVNÝCH DISPERZÍ**

### **NUKLEÁRNÍ MAGNETICKÁ REZONANCE (ssNMR)**

Spektra <sup>13</sup>C CP-MAS ssNMR byla získána pomocí spektrometru Bruker 400 WB (Bruker Biospin, GmbH, Německo) ve 4 mm rotorech s frekvencí otáčení 13 kHz.

### **INFRAČERVENÁ SPEKTROMETRIE (IR)**

ATR (ZnSe) infračervená spektra byla získána pomocí FTIR spektrometru Nicolet Nexus (Thermo, USA) s akumulací 12 skenů a spektrálním rozlišením 4 cm<sup>-1</sup>.

### **RAMANOVA SPEKTROMETRIE (RS)**

FT-Ramanova spektra byla získána pomocí FT-Ramanova spektrometru RFS 100/S (Bruker, Německo) s akumulací 64 skenů a spektrálním rozlišením 4 cm<sup>-1</sup>.



## MODULOVANÁ DIFERENCIAČNÍ SKENOVACÍ KALORIMETRIE (MDSC)

DSC měření byla provedena na zařízení Discovery DSC (TA Instruments, USA). Jednotlivé vzorky byly naváženy (3 až 5 mg) do hliníkových kelímků s víčkem (40  $\mu$ L). Měření probíhalo pod dusíkovou ochrannou atmosférou. Měření bylo provedeno v rozsahu teplot od 0 do 200 °C s teplotním gradientem 5 °C/min (amplituda = 0,8 °C, perioda = 60 s). Výsledky DSC měření jsou uvedené jako teploty vrcholu píku měření ( $T_{peak}$ ), resp. teplota počátku ( $T_{onset}$ ) píku pro krystalickou formu a pro teplotu skelného přechodu ( $T_g$ ) pro amorfni formu.

## ANALÝZA SPECIFICKÉHO POVRCHU

Specifický povrch byl měřen pomocí zařízení Nova 2000e (Quantachrome, USA). Desorpce probíhala pod vakuem po dobu 2 hodiny a při teplotě 40 °C. Sorpce dusíku probíhala při teplotě kapalného dusíku s 13bodovým BET (Brunauer, Emmett a Teller) výpočtem.

## SKENOVACÍ ELEKTRONOVÁ MIKROSKOPIE (SEM)

Morfologie byla hodnocena pomocí skenovacího elektronového mikroskopu (SEM) Mira/Tescan II LM (Tescan a.s., Česká republika). Malé množství každého vzorku bylo fixováno na hliníkovém terčíku pomocí oboustranné vodivé karbonové lepicí pásky a pokoveno platinou během 240 s při 15 mA (Sputter SC7640, Quorum Technologies Ltd, Ashford, UK). Hodnocení distribuce velikosti částic bylo provedeno pomocí softwaru pro obrazovou analýzu (NIS Elements 4.11, LIM – Laboratory imaging, s.r.o., Česká republika). K vyjádření početního vyjádřené distribuci velikosti částic bylo hodnoceno 600 částic od každého vzorku. Toto množství bylo u všech hodnocených materiálů v experimentu dostatečné pro dosažení Gaussova rozložení. Velikost částic jednotlivých vzorků je možné porovnat na základě d-hodnot označovaných jako  $d(0,1)$  pro 10 % nejmenších částic,  $d(0,5)$  pro medián velikosti a  $d(0,9)$  pro 90 % sledovaných částic.

## DISOLUCE

Rychlost rozpouštění (hodnocení disoluce) byla hodnocena pomocí disolučního přístroje Sotax AT-7 (Sotax AG, Aesch, Švýcarsko). Měření probíhalo při teplotě 37 °C v nádobách se zmenšeným objemem a s mini míchadly. Měření disolucí probíhalo ve 150 ml acetátového pufru (50 mM) při pH 4,5. Rychlost míchání byla po celou dobu měření konstantní, nastavená na 125 ot.min<sup>-1</sup>. Koncentrace rozpouštěné účinné látky byla měřena *on-line* po filtraci roztoku přes skleněný mikrofiltr 0,7  $\mu$ m (Whatman, GE Healthcare Life Sciences, Buckinghamshire, Velká Británie), pomocí UV/Vis Spektrometru Lambda 25 (Perkin Elmer, Waltham, MA, USA) při 263 nm. Hodnota absorpance byla kontrolována při 600 nm, aby byly detekovány případné částice prošlé

přes filtr. Nestlačený práškový materiál byl přesně zvážen a vložen do disoluční nádoby. Použité množství odpovídalo u všech měření přibližně 10 mg účinné látky.

### 3.3 Vliv procesních parametrů hot-melt extruze na atributy kvality produktu a průběhu procesu

Pro účely tohoto experimentu byla použita modelová směs, která je na daném zařízení běžně zpracovávána a pro jejíž výrobu byly procesní parametry nastaveny empiricky již dříve.

#### 3.3.1 Materiály a metody pro přípravu pevných disperzí

Jako hydrofilní nosič pro přípravu pevných roztoků byl v tomto experimentu použit kopolymer Soluplus® (BASF, Ludwigshafen, Německo). Modelovým léčivem byl zvolen febuxostat (Zentiva, Praha, Česká republika). Obě látky byly farmaceutické kvality a pro účely experimentu byly smíseny v poměru 1:2 (m/m) s převahou polymerního nosiče. Připravená směs byla po předchozím síťování (síto s velikostí ok 1,00 mm) v množství po 500 g homogenizována ve tří-dimenzionálním míšiči Turbula.

#### HOT-MELT EXTRUZE

Pro přípravu vzorků byl použit dvoušroubový korotační mini extrudér Three-Tec ZE 12 (ThreeTec, Švýcarsko) osazený komorou s pěti oddělenými segmenty, z nichž každý je možné zvlášť temperovat, případně chladit tlakovým vzduchem. Materiál byl do extrudéru dávkován gravimetricky pomocí dvoušroubového dávkovače Three-Tec ZD 9 FB-C-1M-80 (ThreeTec, Švýcarsko). Konkrétní nastavení pro jednotlivé experimenty je uvedeno dále v kapitole „Plán experimentů“.

#### 3.3.2 Analytické metody

##### MODULOVANÁ DIFERENCIAČNÍ SKENOVACÍ KALORIMETRIE (MDSC)

DSC měření byla provedena na zařízení Discovery DSC (TA Instruments, USA). Jednotlivé vzorky byly naváženy (3 až 5 mg) do hliníkových kelímků s víčkem (40 µL). Měření probíhalo pod dusíkovou ochrannou atmosférou. Měření bylo provedeno v rozsahu teplot od 0 do 200 °C s teplotním gradientem 5 °C/min (amplituda = 0,8 °C, perioda = 60 s). Výsledky DSC měření jsou uvedené jako teploty vrcholu píku měření (Tpeak), resp. teplota počátku (Tonset) píku pro krystalickou formu a pro teplotu skelného přechodu (Tg) pro amorfni formu. Enthalpie je uváděna v J/g.

##### SOFTWARE PRO PROVEDENÍ STATISTICKY NAVRŽENÉHO EXPERIMENT (DoE)

Pro naplánování a vyhodnocení statisticky navrženého experimentu bylo použito softwaru MODDE (ver. 11, MKS Umetrics AB, Švédsko). Podrobné informace jsou dále rozvedeny v odstavci 3.3.3.

### 3.3.3 STATISTICKÝ NÁVRH EXPERIMENTU

#### VÝBĚR PROCESNÍCH PARAMETRŮ – FAKTORŮ

Do statistického experimentu (DoE) byly zahrnuty všechny nezávisle proměnné procesní parametry hot-melt extruze, tj. rychlost otáčení šroubů, rychlost plnění materiálu, teplota komory, design šroubu a průměr trysky. [42, 103] Provedení komory použitého zařízení není modulární a neumožňuje tak žádné změny v uspořádání. V DoE není proto uvažován jako proměnný parametr.

Střední hodnoty procesních parametrů vycházejí z empiricky zjištěného nastavení, které je pro zpracování dané směsi možné použít. Rozmezí hodnot (viz tabulka 2) jednotlivých parametrů pro experiment bylo zvoleno na základě technických, popřípadě praktických omezení. Nastavení zařízení pro jednotlivé dílčí experimenty je uvedeno v tabulce 2.

**TABULKA 2** Procesní parametry použité pro DoE.

rychlost otáčení šroubů [rpm]	rychlost plnění materiálu [g/h]	teplota komory [°C]	design šroubů [-]	průměr trysky [mm]
50 - 150	200 - 400	120 - 150	hladký	1,5
			s mísícími elementy	3,0
			s hnětacími elementy	

Rozmezí teplot uvedené v tabulce 3 platí vždy pro 2. až 5. segment komory zařízení. V 1. segmentu byla teplota pro všechny dílčí experimenty nastavena shodně na 80 °C.

Zatímco v případě rychlosti otáčení šroubů, rychlosti plnění materiálu a teploty komory jde o parametry spojité (kvantitativní), v případě designu šroubu a průměru trysky jde o parametry, které je možné měnit pouze nespojitě (kvalitativní) – tj. v krocích.



**OBRAZEK 5** Design šroubu – použité elementy (zleva): hladké, hnětací, mísící.

Pro DoE byly použity modulární šrouby s vyměnitelnými elementy (viz obrázek 5). Tyto elementy byly umístěny ve 2. a 4. segmentu komory zařízení.

## **SLEDOVANÉ ODEZVY (PROCESNÍ ÚDAJE A CHARAKTERISTIKY MATERIÁLU) A JEJICH VÝBĚR**

- Točivý moment (N . m) – Údaj je přímo zobrazován na ovládacím panelu zařízení. V experimentu byl vždy odečítán po ustálení procesu, uvažován je vždy průměr ze tří hodnot (začátek, střed, konec chodu každého z nastavení). Tato odezva byla do DoE zahrnuta jako měřítko proveditelnosti procesu hot-melt extruze.
- Teplota skelného přechodu  $T_g$  (°C) – Měření probíhalo na rozdrceném a prosítovaném (1,0 mm) extrudátu, odebraném po ustálení chodu zařízení. Teplota skelného přechodu představuje v DoE parametr pro posuzování kvality získaného produktu.

## **PLÁN EXPERIMENTŮ**

Pro účely tohoto DoE (tj. zjištění vlivu jednotlivých parametrů) – tzv. screening parametrů (blíže viz úvod 1.5), je nejvhodnější lineární částečný faktorový model (fractional factorial design). Zvolený model byl jako první volba navržen i v použitém softwaru (druhou volbou byl interakční D-optimal model se 27 experimenty). Vypracování modelu obnáší 18 dílčích experimentů a tři středové body. Přehled nastavení pro dílčí experimenty je uveden níže v tabulce 3.

**TABULKA 3** Rozpis procesních parametrů pro jednotlivé dílčí experimenty.

Exp No	Rychlost otáčení šneků (rpm)	Design šneků (-)	Rychlost plnění (g/h)	průměr trysky (mm)	teplota (°C)
1	50	Hladký	200	1,5	120
2	50	Hladký	300	1,5	135
3	50	Hladký	400	3,0	150
4	50	S mísíci elementy	200	1,5	135
5	50	S mísíci elementy	300	1,5	150
6	50	S mísíci elementy	400	3,0	120
7	50	S hnětacími elementy	200	1,5	120
8	50	S hnětacími elementy	300	3,0	135
9	50	S hnětacími elementy	400	1,5	150
10	150	Hladký	200	3,0	150
11	150	Hladký	300	1,5	120
12	150	Hladký	400	1,5	135
13	150	S mísíci elementy	200	1,5	150
14	150	S mísíci elementy	300	3,0	120
15	150	S mísíci elementy	400	1,5	135
16	150	S hnětacími elementy	200	3,0	135
17	150	S hnětacími elementy	300	1,5	150
18	150	S hnětacími elementy	400	1,5	120
19	100	Hladký	300	1,5	135
20	100	Hladký	300	1,5	135
21	100	Hladký	300	1,5	135

*Pozn. Parametry rychlost šneků, rychlost plnění a teplota jsou kvantitativní; parametr design šneků je kvalitativní a parametr průměr trysky je kvantitativní-víceúrovňový*

## 4. VÝSLEDKY A DISKUZE

Následující kapitola kopíruje strukturu experimentální části. Je tedy rozdělena na tři oddíly, v nichž jsou samostatně uvedeny výsledky a diskuze k části věnující se vývoji metody pro výběr polymerního nosiče (kap. 4.1), zjištění vlivu metody použité pro přípravu pevné disperze na kvalitu a vlastnosti získaného materiálu (kap. 4.2) a zjištění klíčových parametrů hot-melt extruze (kap. 4.3).

### 4.1 VÝBĚR POLYMERU A ZJIŠTĚNÍ VHODNÉHO POMĚRU ÚČINNÉ LÁTKY A POLYMERNÍHO NOSIČE

Vzorky pevných disperzí s různým obsahem (10, 25, 50 a 75 % m/m) účinné látky byly připraveny třemi různými metodami: sprejovým sušením, odpařováním rozpouštědla a metodou litých filmů (viz samostatný odstavec v kapitole 3.1.1).

Všechny vzorky připravené sprejovým sušením a odpařováním rozpouštědla byly nejprve analyzovány pomocí modulované diferenční skenovací kalorimetrie (mDSC). Výsledky jsou uvedeny v tabulce 4.

Jako pevný roztok (tj. bez příměsi druhé - krystalické, nebo amorfní – fáze) je možné označit všechny vzorky připravené sprejovým sušením. Toto pozorování bylo potvrzeno také měřením nukleární magnetickou rezonancí v pevné fázi (ssNMR) u vzorků s nejvyšším obsahem účinné látky.

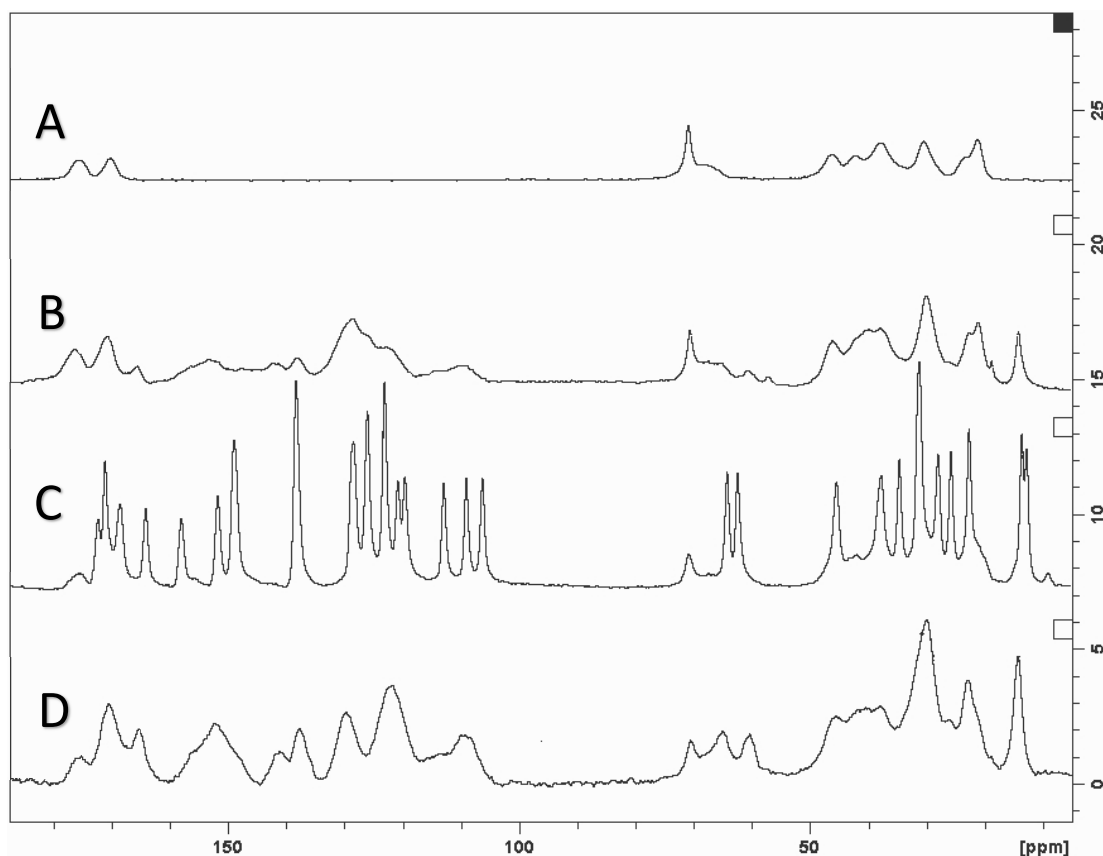
Mezi vzorky připravenými odpařováním rozpouštědla je možné jako pevný roztok označit všechny vzorky, které obsahují 10 % a 25 % účinné látky a dále vzorky s obsahem 50 % účinné látky, u nichž byl jako polymerní nosič použit Kollidon VA64 a Soluplus. Tyto vzorky byly také potvrzeny jako amorfní pomocí ssNMR.

**TABULKA 4** Složení a Tg vzorků připravených sprejovým sušením a odpařováním rozpouštědla.

	<b>Dabigatran etexilát</b>	<b>Odpařování rozpouštědla</b>	<b>Sprejové sušení</b>
	% (w/w)	°C	°C
Kollidon VA64	10	Tg=72	Tg=101
	25	Tg=76	Tg=92
	50	Tg=71	Tg=75
	75	Crystalline	Tg=63
Povidone K30	10	Tg=143	Tg=149
	25	Tg=127	Tg=132
	50	Tg1=46; Tg2=145	Tg=105
	75	Crystalline	Tg=66
Soluplus	10	Tg=66	Tg=63
	25	Tg=65	Tg=61
	50	Tg=62	Tg=59
	75	Crystalline	Tg=51

Spektra ssNMR vybraných vzorků obsahujících jako polymerní nosič Soluplus jsou uvedena na obrázku 6. Ve spektru, označeném písmenem C - vzorek připravený odpařováním rozpouštědla s obsahem polymeru Soluplus a 75% účinné látky, byly pozorovány ostré signály krystalické účinné látky. Naopak ve spektru B - vzorek připravený odpařováním rozpouštědla s obsahem Soluplusu a 50 % účinné látky a ve spektru D - vzorek připravený sprejovým sušením, obsahující Soluplus a 75 % účinné látky. V těchto vzorcích je vedle spekter odpovídajících samotnému polymeru (spektrum A) možné pozorovat široké signály odpovídající amorfní formě účinné látky.





**OBRÁZEK 6**  $^{13}\text{C}$  ssNMR spektra polymeru Soluplus (A); vzorku obsahujícího Soluplus a 50 % účinné látky, připraveného prostým odpařením rozpouštědla (B); vzorku obsahujícího Soluplus a 75 % účinné látky, připraveného prostým odpařením rozpouštědla (C); vzorku obsahujícího Soluplus a 75 % účinné látky, připraveného sprejovým sušením (D).

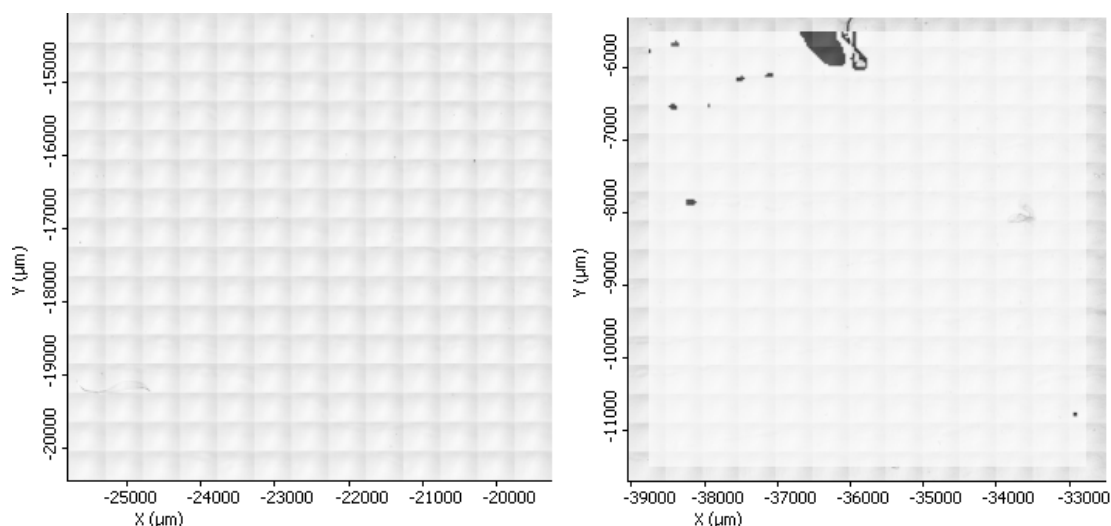
Ve vzorku obsahujícím Povidon K30 a 50 % účinné látky, připravený odpařováním rozpouštědla, byly pomocí mDSC identifikovány 2 teploty skelného přechodu, což znamená, že v tomto případě nebyla získána jednofázová amorfnní pevná disperze (tj. pevný roztok). To může být známka toho, že vzorky tohoto složení připravené např. sprejovým sušením, u kterého pevného roztoku dosaženo bylo, mohou být více náchylné k oddělování druhé fáze (tj. pevnofázové nestabilitě). Všechny vzorky, obsahující 75 % účinné látky, připravené odpařováním rozpouštědla, byly krystalické.

U vzorků obsahujících jako polymerní nosič Kollidon VA64, resp. Povidon K30 připravených odpařováním rozpouštědla, byla pozorována nižší teplota skelného přechodu, než u vzorků shodného složení připravených sprejovým sušením. U vzorků obsahujících Soluplus jsou teploty skelného přechodu u vzorků stejného složení velmi podobné pro vzorky získané oběma použitými metodami (sprejové sušení i odpařování rozpouštědla). Vedle použitého polymeru je možné rozdíly v  $T_g$  u jednotlivých vzorků odpovídajícího složení přičíst způsobu jakým je z materiálu odstraněno rozpouštědlo. V případě vzorků připravených prostým odpařením je odstranění rozpouštědla

pomalejší a méně efektivní, než u sprejového sušení. Potenciálně vyšší zbytkový obsah rozpouštědla v materiálu získaném prostým odpařením rozpouštědla může zapříčinit vyšší molekulární mobilitu, tj. nižší  $T_g$  a také větší tendenci k rekrystalizaci účinné látky.

U vzorků připravených odpařováním rozpouštědla a především sprejovým sušením bylo dále možné pozorovat pokles teploty skelného přechodu se vzrůstajícím obsahem účinné látky (viz tabulka 4). U vzorků s rostoucím obsahem účinné látky je proto možné odhadovat nižší pevnofázovou stabilitu. Nejnižší teplotu skelného přechodu vykazovaly ve sledovaném souboru vzorky obsahující jako polymerní nosič Soluplus.

Vzorky připravené litím filmů byly analyzovány pomocí Ramanova a infračerveného mapování. Ty vzorky, u nichž nebylo možné na spektrálních mapách pozorovat částice účinné látky a/nebo oblasti s vyšší koncentrací účinné látky byly vyhodnoceny jako pevné roztoky. Přítomnost samostatných částic, případně oblastí s vyšší koncentrací účinné látky, pozorovatelných ve spektrálních mapách, byla považována za známku toho, že vzorky nemají povahu amorfní pevné disperze (tj. pevného roztoku). Příklad infračervené spektrální mapy je na obrázku 7, který zobrazuje filmy obsahující Soluplus s obsahem 50 (bez obsahu částic, vlevo) a 75 % (s pozorovatelnými částicemi API, vpravo) účinné látky. Dalším vzorkem, u něhož byly pomocí mapování identifikovány částice účinné látky, byl ten, který obsahoval Kollidon VA64 a 75 % účinné látky (není zobrazeno). Souhrn výsledků litých filmů získaných pomocí mapování je uveden v tabulce 5.



**OBRAZEK 7** Mapy získané infračerveným mapováním litých filmů, obsahujících Soluplus a 50 % účinné látky (A) a 75 % účinné látky (B).

**TABULKA 5** Složení testovaných vzorků a výsledky Ramanova a Infračerveného mapování litých filmů.

	<b>Dabigatran etexilát</b>	<b>Metoda litých filmů (film casting)</b>	
	% (w/w)	Raman mapping	IR mapping
Kollidon VA64	10	no particles	no particles
	25	no particles	no particles
	50	no particles	no particles
	75	Particles identified	Particles identified
Povidone K30	10	no particles	no particles
	25	no particles	no particles
	50	no particles	no particles
	75	no particles	no particles
Soluplus	10	no particles	no particles
	25	no particles	no particles
	50	no particles	no particles
	75	Particles identified	Particles identified

Jednotlivá spektra byla do plošné mapy sestavena pomocí analýzy hlavních komponent (PCA). Tímto způsobem je možné odlišná spektra rozdělit a graficky vyznačit oblasti s vyšší koncentrací účinné látky v kontrastu s jinak homogenním polymerním filmem. Takto vyznačená místa je možné považovat za plochy s výskytem amorfních shluků nebo částic účinné látky, popřípadě formujících se krystalických částic. Tato informace je velmi výhodná, protože ve srovnání s optickou mikroskopií poskytuje nejen prostou informaci o přítomnosti částic, případně nehomogenitách, ale také o jejich chemické povaze, a případně i krystalinitě. Mapy byly vytvořeny na základě rozdílných spektrálních pásů pomocí PCA, a to bez ohledu na jejich krystalickou formu, tj. uvažována byla skupina spekter odpovídajících pevnému roztoku a těch, která odpovídají samotné účinné látce. Extrémně ostrá a intenzivní spektra byla z hodnocení PCA vyloučena. Tím byla eliminována interference například se spektry neodrušeného kosmického záření.

I přes rozdíly v prostorovém rozlišení použitých zobrazovacích metod (Ramanova a infračervená mikrospektrometrie), jsou jejich výsledky ve vzájemném souladu u všech hodnocených vzorků (viz tabulka 5). Zároveň rozpustnost účinné látky ve vybraných polymerech, určená pomocí hodnocení litých filmů mapovacími spektrálními metodami, koresponduje s rozpustností zjištěnou konvenčními metodami (mDSC a ssNMR) u vzorků připravených odpařováním rozpouštědla (viz tabulka 4).

Rozpustnost účinné látky v polymerech odvozená ze vzorků připravených sprejovým sušením a charakterizovaných pomocí mDSC a ssNMR nesouhlasí s rozpustností určenou u vzorků připravených litím filmů a charakterizovaných mapováním. Rozdíly ve zdánlivé rozpustnosti lze připsat metodě použité pro přípravu vzorků, resp. rychlosti, jakou je při nich rozpouštědlo ze vzorků odstraněno. Rychlost

odpařování rozpouštědla je pro metodu litých filmů a metodu přípravy prostým odpařováním rozpouštědla podobná. Probíhá volně na vzduchu v laboratorních podmínkách a pohybuje se v řádu dnů. V případě sprejového sušení je rychlost odpařování rozpouštědla mnohem vyšší (sekundy, zlomky sekund). Čím rychlejší je odpařování rozpouštědla, tím rychleji materiál tuhne, méně dochází k nukleaci uvnitř vzorků a tím pravděpodobnější je vznik amorfní pevné disperze. [104]

S rychlostí odpařování rozpouštědla a vnitřním uspořádáním pevné disperze souvisí také teplota skelného přechodu získaného vzorku. Čím homogennější je rozptýlení účinné látky mezi jednotlivými polymerními řetězci, tím víc energie je potřeba dodat k tomu, aby po sobě molekulární řetězce mohly vzájemně začít klouzat. Vnější projevem je právě vyšší teplota skelného přechodu u vzorků připravených sprejovým sušením. Všechny vzorky připravené v experimentu touto metodou byly vyhodnoceny pomocí mDSC a potvrzeny pomocí ssNMR jako homogenní pevné roztoky.

Na základě získaných výsledků je možné dále pozorovat, že metoda s nižší rychlostí odpařování rozpouštědla (film casting, metoda přípravy prostým odpařováním), odhalí s větší pravděpodobností vzorky náchylné k fázové separaci. Z tohoto důvodu jsou takové metody pro screening vzorků při vyhledávání vhodného složení výhodnější.

V tabulce 6 je uvedeno srovnání metod použitých v tomto experimentu. Hlavní nevýhodou přístupu, ve kterém jsou pomocí zobrazovacích technik hodnoceny polymerní filmy, je časově náročná příprava vzorků, která navíc vyžaduje jistou zkušenost k tomu, aby bylo dosaženo vyhovující kvality (tj. zejména povrchu bez bublin). Zároveň ale informace získaná pomocí mapování může obsahovat v jednom měření více údajů (např. interakce komponent, krystalinita, homogenita). I přes četné výhody této metody se její uplatnění v této oblasti neobjevuje v odborné literatuře příliš často.

**TABULKA 6** Srovnání analytických metod použitých v experimentu

	Spektrální mapování litých filmů	konvenční analytické metody mDSC a ssNMR
+	Umožňuje přímou identifikaci potenciální interakce mezi účinnou látkou a polymerem	mDSC umožňuje porovnávat stabilitu pevných disperzí pomocí hodnoty T <sub>g</sub> .
	Možné použití pro charakterizaci vícesložkových pevných disperzí.	
	Umožňuje analyzovat prostorové uspořádání složek pevné disperze.	ssNMR poskytuje celkovou informaci o složení směsi.
	Jde o nedestruktivní metodu.	
-	Časově náročná příprava filmů.	Měření se provádí na velmi malém množství vzorku (reprezentativnost).
	Vysoká chybovost při přípravě vzorků (homogenita).	Příprava vzorků může způsobit neurčené změny (vedoucí ke krystalizaci?).
	Analyzovaný je pouze malý výřez vzorku (reprezentativnost?).	Ne vždy je možné pomocí ssNMR rozlišit nehomogenní pevné disperze a pevné roztoky (závisí na množství a povaze konkrétního materiálu).
	Omezené prostorové rozlišení.	Spektra amorfni formy účinné látky neodpovídají spektrum účinné látky inkorporované do polymerního nosiče.

Pro účely experimentu v této dizertační práci byl jako účinná látka zvolen dabigatran etexilát. Dabigatran etexilát je látka klasifikovaná jako BCS 2, navíc jde o látku náchylnou k hydrolýze a s nízkou teplotní odolností, což z ní činí látku obtížnou na formulování do lékové formy. Tvorba pevné disperze by tak pro tuto látku byla velmi výhodná. Pro přípravu vzorků pevných disperzí byla použita metoda litých filmů. Jde o jednoduchou metodu přípravy, která má potenciál odrýt potenciálně nevhodné (tj. pevnofázově nestabilní) kombinace účinné látky s polymerem.

Všechny vzorky připravené v experimentu sprejovým sušením byly pomocí mDSC a ssNMR potvrzeny jako pevné roztoky. Některé ze vzorků však lze považovat za více náchylné ke krystalizaci účinné látky. To bylo možné pozorovat u vzorků připravených metodou litých filmů hodnocených pomocí Ramanova a Infračerveného mapování a potvrzeno pomocí sady vzorků stejného složení připraveného metodou odpařování rozpouštědla u vzorků obsahujících jako polymerní nosič Kollidon VA64 a Soluplus, oba s obsahem 75 % účinné látky – dabigatran etexilátu.

Chemické mapování v kombinaci s přípravou vzorků pomocí metody litých filmů lze považovat za vhodné nástroje pro indikování pevnofázového stavu a homogenity pevných disperzí a je možné je použít pro screening vzorků při vyhledávání vhodného polymerního nosiče pro tvorbu pevného roztoku konkrétní účinné látky.

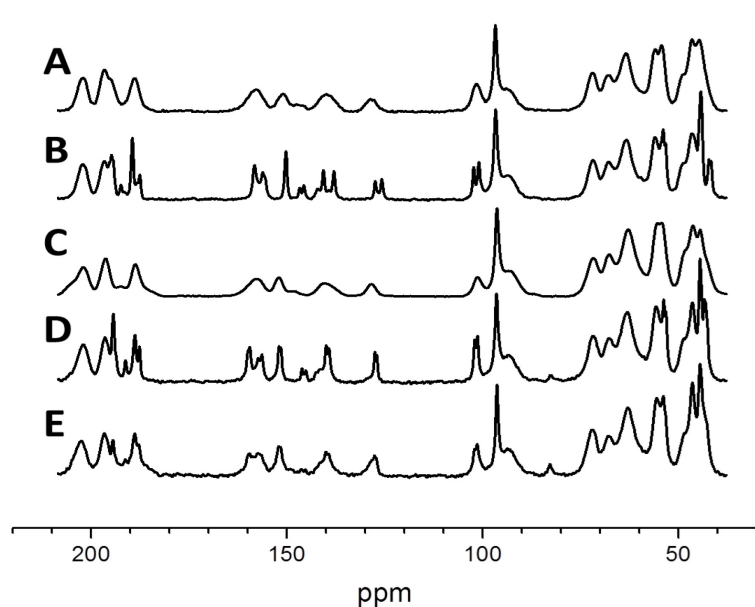
U výsledků vzorků připravených metodou litých filmů, hodnocených chemickým mapováním, byla pozorována částečná shoda (v případě polymerního nosiče Kollidonu VA64, resp. Soluplusu) s výsledky dosaženými kombinací konvenčních analytických metod použitých k charakterizaci vzorků shodného složení připravených metodou prostého odpařování rozpouštědla. Rozdíl v dosažených hodnotách maximální koncentrace pevných roztoků (v případě polymerního nosiče Povidonu K30) může souviset s konkrétní metodou zvolenou pro přípravu pevných roztoků, resp. s použitím tohoto konkrétního polymeru a možností jeho specifické interakce se zkoumanou účinnou látkou. Při vyhledávání vhodného polymerního nosiče je proto výhodné uplatnit více způsobů přípravy vzorků stejného složení, navíc charakterizovaných různými analytickými metodami.

Potenciální výhodou chemického mapování oproti konvenčním analytickým metodám, používaných v této oblasti (tj. i optická mikroskopie), je schopnost identifikovat chemickou povahu pozorovaných částic, a případně charakterizovat vícesložkové směsi, například s ohledem na vzájemnou kompatibilitu po přidání plastifikátoru, apod.

## 4.2 VLIV METOD PŘÍPRAVY NA VLASNTOSTI PEVNÝCH DISPERZÍ

### NUKLEÁRNÍ MAGNETICKÁ REZONANCE (ssNMR)

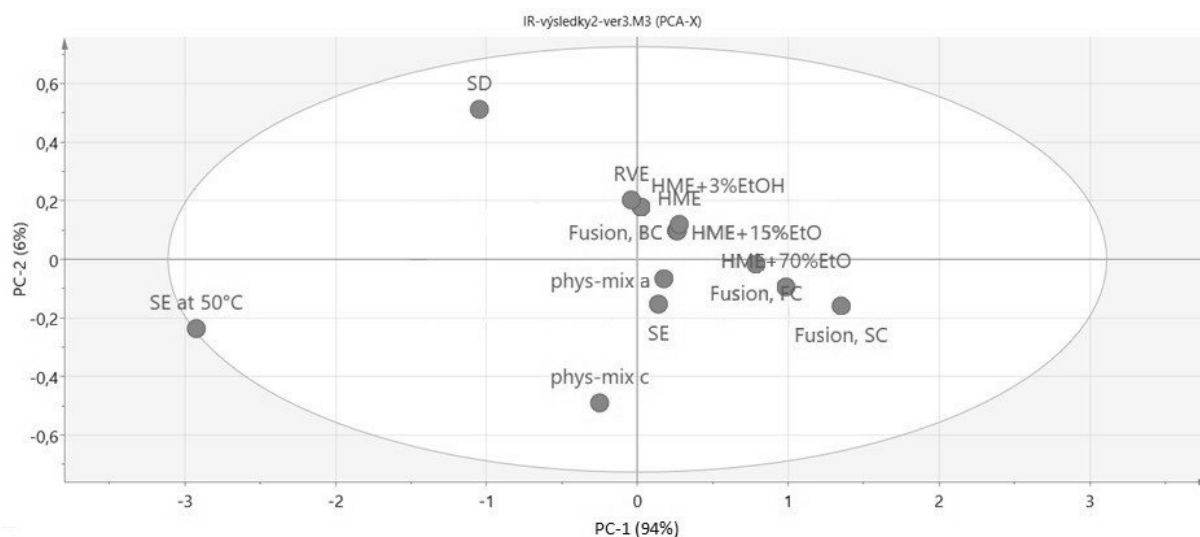
Pevnofázová NMR spektra byla získána u všech pevných disperzí, připravených v tomto experimentu. Navíc byly pomocí ssNMR charakterizovány také čistá krystalická a amorfnní účinná látka a také prostá směs účinné látky s polymerem ve stejném poměru, jaký byl použit u vzorků pevných disperzí. SsNMR spektra vybraných vzorků jsou uvedena na obrázku 8. Pouze dva vzorky pevných disperzí obsahovaly krystalickou účinnou látku, vzorek připravený odpařováním rozpouštědla při laboratorní teplotě (SE) a při 50 °C (SE at 50 °C) – viz tabulka 7. SsNMR spektra těchto dvou vzorků odpovídají spektru fyzikální směsi krystalické účinné látky s polymerem. Spektra vzorků amorfnních pevných disperzí byla podobná (nikoliv identická) se spektrem fyzikální směsi amorfnní účinné látky s polymerem. Z toho důvodu je ssNMR možné použít pro identifikaci amorfnních pevných disperzí (tj. pevných roztoků) u vzorků testovaného složení (tj. febuxostat:Soluplus 1:2). Avšak k rozlišení jednofázové a dvoufázové disperze amorfnní účinné látky je třeba kombinace s další analytickou metodou.



**OBRÁZEK 8** SsNMR spektra vybraných vzorků: fyzikální směs amorfnního febuxostatu a Soluplusu (A), fyzikální směs krystalického febuxostatu a Soluplusu (B), Amorfnní jednofázová pevná disperze připravená sprejovým sušením (C), krystalická pevná disperze připravená prostým odpařením rozpouštědla (D) a odpařením rozpouštědla při teplotě 50 °C (E).

## INFRAČERVENÁ A RAMANOVA SPEKTROMETRIE (IR A RS)

Infračervená a FT-Ramanova spektra byla změřena na všech pevných disperzích připravených v tomto experimentu. Kromě toho, byly pomocí těchto metod změřeny také čistá krystalická a amorfnní účinná látka a jejich fyzikální směsi s polymerem Soluplus ve stejném poměru, který byl použit u vzorků pevných disperzí. Všechna tato spektra byla hodnocena pomocí analýzy hlavních komponent (PCA) v oblasti vlnočtů  $800 - 1600 \text{ cm}^{-1}$ .



**OBRAZEK 9** Graf komponentního skóre analýzy hlavních komponent Infračervených spekter v oblasti  $800-1600 \text{ cm}^{-1}$ . (význam zkratk viz str. 10)

Na grafu komponentního skóre (viz obrázek 9) analýzy hlavních komponent se na první pohled odlišuje vzorek (SE at  $50^\circ\text{C}$ ), který je separovaný od ostatních pozorování. Infračervené spektrum tohoto vzorku (resp. jeho sledovaná část v oblasti  $800 - 1600 \text{ cm}^{-1}$ ) se podle první hlavní komponenty (PC1), která vyjadřuje 94% variability mezi jednotlivými vzorky, od ostatních vzorků nejvíce odlišuje. Ostatní vzorky jsou si podle PC1 navzájem podobné. Je ale možné pozorovat podobnosti mezi jednotlivými vzorky a jejich klastrování, i když rozdíly nejsou nijak výrazné. Více podobné jsou navzájem vzorek fusion SC, FC a HME + 70 % EtOH (první klastr), u nichž lze pozorovat odlišnosti od fyzikální směsi amorfnní účinné látky s polymerem a vzorku SE (druhý klastr), a od další skupiny tvořené vzorky HME + 3 % EtOH, HME, RVE, Fusion BC (třetí klastr).

Podle druhé hlavní komponenty (PC2) jsou nejvíce rozdílná spektra vzorku SD a fyzikální směsi krystalické účinné látky. Na základě tohoto pozorování je možné předpokládat, že PC2 vyjadřuje rozdíly v krystalinitě vzorku (čím nižší je hodnota na ose reprezentující PC2, tím vyšší je krystalinita), zatímco PC1 spíše souvisí s intenzitou interakcí mezi účinnou látkou a polymerem.

Karboxylové skupiny a intenzita vazebných interakcí na nich jsou lépe pozorovatelné v infračervených spektrech. To může vysvětlovat to, proč je vzorek SE at



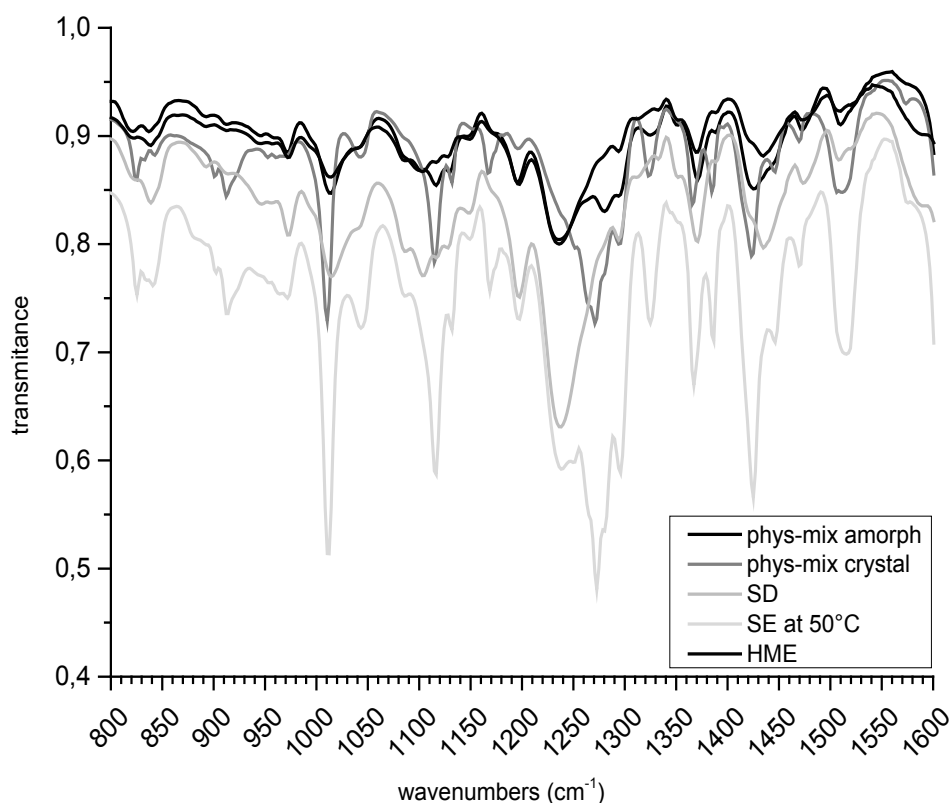
50 °C na obrázku 9, na rozdíl od PCA Ramanových spekter (obrázek 12) poněkud izolovaný od ostatních vzorků.

Podle grafu zátěží pro PC1 (viz obrázek 10) se nejvýznamnější rozdíly mezi spektry vyskytují v oblasti otisku prstu. Zde se také nacházejí pásy, jejichž intenzita je připisována krystalinitě vzorků (pásy při vlnočtech přibližně 1010, 1110 a 1270  $\text{cm}^{-1}$ ).



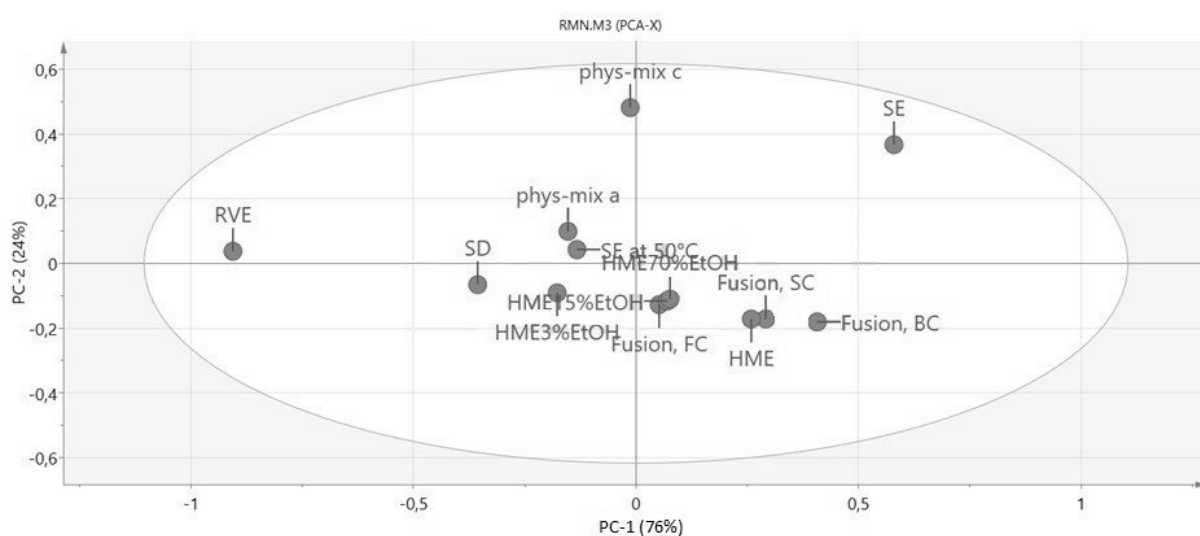
**OBRÁZEK 10** Graf zátěží pro první komponentu analýzy PCA infračervených spekter.

To je možné demonstrovat porovnáním spekter odpovídajících vzorkům s nízkou krystalinitou (HME, SD) a vzorků krystalických (fyzikální směs krystalické účinné látky a vzorek SE at 50 °C) - viz obrázek 11. Pásy specifické pro intenzitu interakce mezi účinnou látkou a polymerem jsou ve srovnání s těmi pro krystalinitu méně výrazné (např. 1240  $\text{cm}^{-1}$ ).



**OBRÁZEK 11** IR spektra vybraných vzorků.

Analýza hlavních komponent byla provedena také pro Ramanova spektra – viz obrázek 12. Podobně jako u infračervených spekter se krystalický vzorek připravený metodou nachází v grafu komponentního skóre v blízkosti krystalické fyzikální směsi, což může ukazovat na absenci interakcí komponent směsi v obou vzorcích.

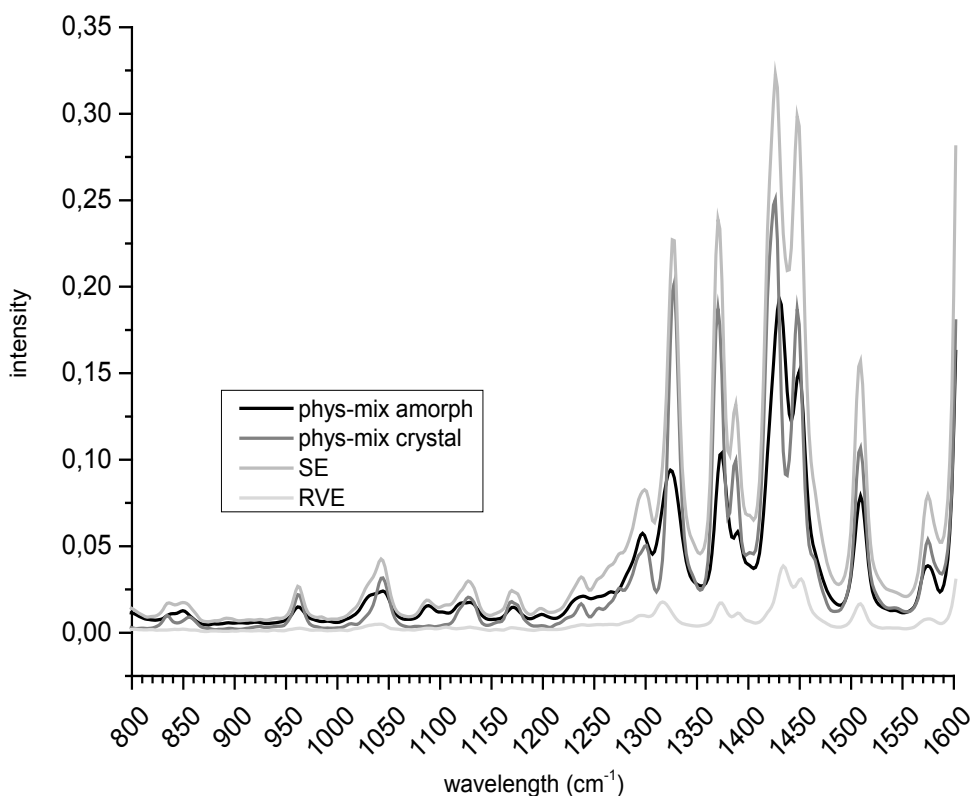


**OBRÁZEK 12** Graf komponentního skóre analýzy hlavních komponent Ramanových spekter v oblasti 800-1600  $\text{cm}^{-1}$ .

Graf zátěží pro PCA Ramanových spekter ukazuje podíl jednotlivých spektrálních pásů na diferenciaci spekter vzorků, vyjádřených první hlavní komponentou. Například pásy při 1430 a 1450  $\text{cm}^{-1}$  byly identifikovány jako oblasti s největším podílem na diferenciaci spekter podél první hlavní komponenty. V této oblasti se všechny vzorky liší nejvýrazněji (viz obrázek 13). Rozdíly je možné přisoudit různé úrovni interakcí mezi komponentami vzorku.



**OBRÁZEK 13** Graf zátěží pro první hlavní komponentu analýzy PCA Ramanových spekter.



**OBRÁZEK 14** Ramanova spektra vybraných vzorků.

## MODULOVANÁ DIFERENČNÍ SKENOVACÍ KALORIMETRIE (mDSC)

Ze všech vzorků připravených v tomto experiment byla na termogramech identifikována krystalická příměs, charakterizovaná teplotou tání ( $T_m$ ) pouze u vzorků připravených prostým odpařením rozpouštědla (SE) a odpařením rozpouštědla při zvýšené teplotě (SE at 50 °C). Tyto vzorky proto mají charakter dvoufázové krystalické pevné disperze. U všech zbývajících vzorků byla na termogramu pozorována pouze jedna teplota skelného přechodu ( $T_g$ ). Všechny tyto vzorky jsou tedy považovány za pevné roztoky (tj. jednofázové amorfní pevné disperze). Všechny výsledky získané pomocí mDSC jsou uvedeny v tabulce 7.

**TABULKA 7** Souhrnná tabulka výsledků (A-amorfní; C-krystalický).

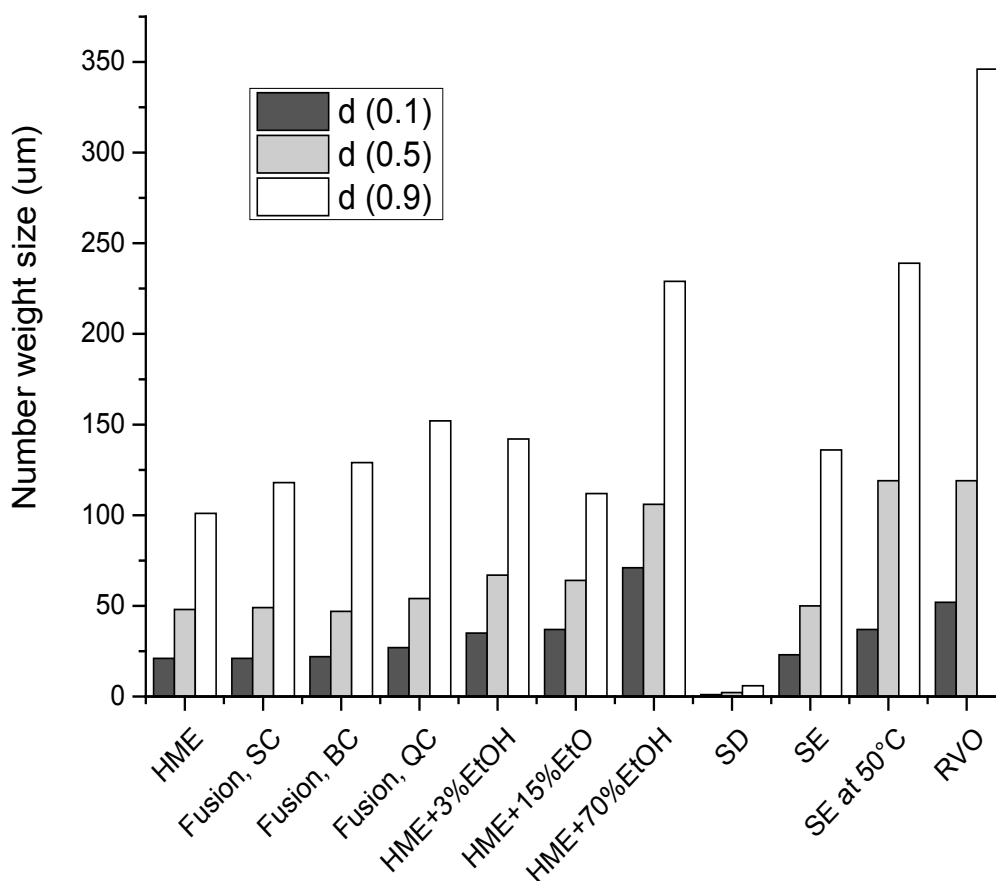
Název vzorku	ssNM R	IR (1272,79 cm <sup>-1</sup> )	RS (1432,08 cm <sup>-1</sup> )	T <sub>g</sub> [°C]	T <sub>m</sub> [°C]	Spec. povrch [m <sup>2</sup> /g]	PSD d(10) [μm]	PSD d(50) [μm]	PSD d(90) [μm]	rozpuštěno v 15min [%]	rozpuštěno v 30min [%]	rozpuštěno v 45min [%]	rozpuštěno v 60min [%]
Soluplus	A	-		64,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
febuxostat crystal.	C	0,75056	0,55808	-	210	-	-	-	-	1,0	1,3	0,0	0,6
dabistat amorph.	A	0,54328	0,52912	106	-	-	-	-	-	0,9	1,2	0,6	1,1
phys. mix (crystal. API)	C	0,73109	0,13530	-	-	-	-	-	-	7,2	11,4	11,2	11,8
phys. mix (amorph. API)	A	0,84089	0,18959	-	-	-	-	-	-	11,2	25,7	27,5	28,9
HME	A	0,87537	0,28904	57,0	-	0,8	21	48	101	13,1	16,9	19,2	26,8
Fusion, SC	A	0,94243	0,28371	51,7	-	0,8	21	49	118	11,8	16,2	19,0	21,0
Fusion, BC	A	0,87676	0,31410	51,9	-	1,0	22	47	129	9,9	13,7	16,3	21,1
Fusion, FC	A	0,90726	0,23560	51,3	-	0,7	27	54	152	12,7	17,1	19,6	18,8
HME+3%EtOH	A	0,85925	0,19340	59,0	-	1,9	35	67	142	12,9	18,1	21,5	21,7
HME+15%EtO	A	0,87158	0,24471	59,2	-	1,1	37	64	112	8,8	13,0	15,9	24,0
HME+70%EtOH	A	0,91396	0,24467	58,9	-	2,1	71	106	229	19,1	21,8	24,4	19,0
SD	A	0,78441	0,15618	63,5	-	2,1	1,1	2,1	5,9	19,1	21,8	24,4	27,6
SE	C	0,81651	0,25415	44,7	116,3	1,2	23	50	136	4,1	7,1	9,0	11,7
SE at 50°C	C	0,48074	0,17812	61,2	135,2	0,4	37	119	239	6,9	11,5	15,1	18,3
RVE	A	0,85206	0,03702	61,1	-	0,9	52	119	346	7,4	11,4	14,5	17,9

### SPECIFICKÝ POVRCH (SSA)

U všech připravených vzorků pevných disperzí byl změřen specifický povrch (přehled viz tabulka 7). Největší hodnotu specifického povrchu vykazoval vzorek připravený sprejovým sušením (SD) a také vzorky připravené pomocí hot-melt extruze vystavené parám ethanolu (HME + 3 % EtOH a HME + 70 % EtOH). Nejmenší specifický povrch měl vzorek připravený odpařením rozpouštědla při zvýšené teplotě (SE at 50 °C). Všechny vzorky měly specifický povrch v rozmezí od 0,4 do 2,1 g/m<sup>2</sup>.

### SCANNING ELECTRON MICROSCOPY (SEM)

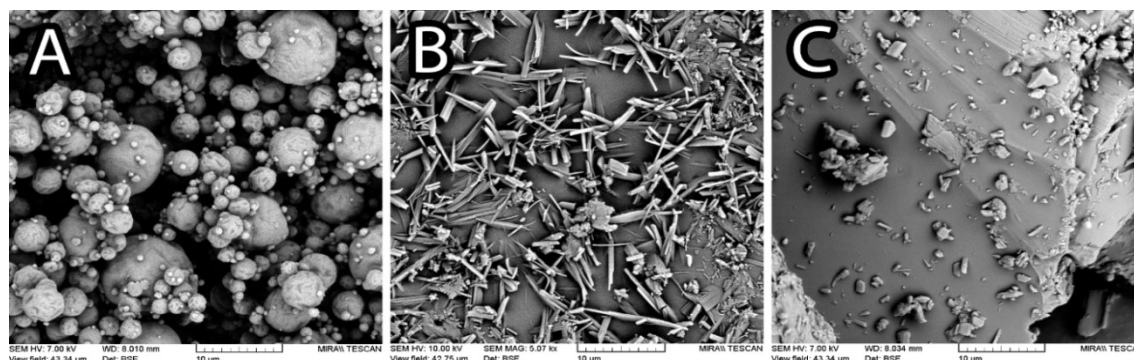
Od každého vzorku pevné disperze bylo pořízeno několik obrazů pomocí skenovacího elektronového mikroskopu pro hodnocení velikosti částic (výsledky viz obrázek 15, resp. tabulka 7). Nejmenší částice byly pozorovány u vzorku vyrobeného sprejovým sušením (SD). Naopak největší částice ve sledovaném souboru byly ty u vzorku připraveného pomocí rotační vakuové odparky (RVE).



**OBRAZEK 15** Početní vyjádření výsledků velikosti částic vyjádřené pomocí d-hodnot.

Na snímcích bylo možné dále pozorovat téměř perfektně sférické částice materiálu připravené sprejovým sušením (obrázek 16A), jemné částice tyčkovitého tvaru u materiálu připraveného odpařením rozpouštědla při zvýšené teplotě (obrázek 16B). Na

povrchu částic připravených prostým odpařením rozpouštědla (obrázek 16C) byly navíc pozorovány částice podobné krystalům. Částice všech ostatních materiálů měly nepravidelný tvar.



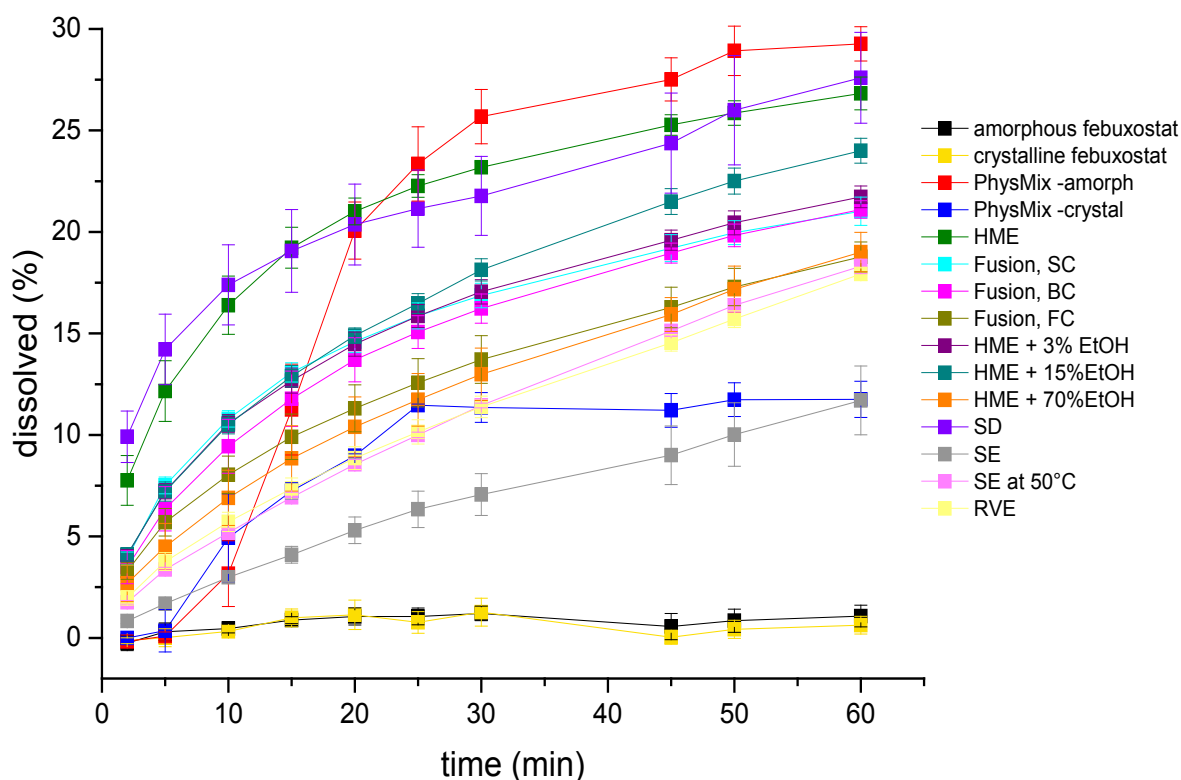
**OBRÁZEK 16** Částice pevných disperzí připravených SD (A), SE at 50 °C (B) a (C).

## DISOLUCE

Hodnocení disoluce bylo provedeno u samotné krystalické i amorfnní účinné látky, u fyzikálních směsí obsahujících krystalickou i amorfnní účinnou látku a u všech vzorků pevných disperzí připravených v experimentu. Výsledky jsou přehledně prezentovány na obrázku 17 resp. v tabulce 7.

Během měření nebyly u žádného ze vzorků pozorovány potíže se smáčivostí. Nebyl pozorován ani šum na základní linii (baseline) UV spektra, což je dokladem toho, že přes filtr neprošly žádné částice. Disoluční metoda byla záměrně nastavena tak, aby nebyly dosaženy sink podmínky, a to proto, aby bylo možné co nejlépe rozlišit rychlost rozpouštění účinné látky ze všech zkoumaných materiálů. Rovnovážná rozpustnost byla určena v předchozím výzkumu (interní výzkum Zentiva k.s.) a při pH 4,5 je její hodnota 0,0044ng/ml. Tato hodnota odpovídá přibližně 7 % účinné látky rozpouštěné v disolučním přístroji.

Z výsledků je zřejmé, že u nejrychlejších materiálů bylo dosaženo 3 až 4 násobného přesycení roztoku, který vznikne rozpouštěním hodnoceného vzorku v disolučním přístroji. U vzorků připravených HME a SD bylo rozpuštěno přibližně 25 % účinné látky. Tento efekt je přičítán především metodě použité při přípravě vzorků, protože složení vzorků je pro všechna měření stejné. Nejpomaleji se účinná látka uvolňuje z materiálu připraveného metodou SE, který obsahuje krystalickou účinnou látku. Zajímavé je, že ze vzorku připraveného metodou SE at 50 °C, který také obsahoval krystalické částice, se účinná látka uvolňuje srovnatelnou rychlostí, jako z homogenně amorfnního vzorku připraveného metodou RVE. Z obou fyzikálních směsí (obsahující amorfnní i krystalickou účinnou látku) se účinná látka uvolňovala rychleji než ze vzorků samotné amorfnní, resp. krystalické účinné látky. Je tedy možné konstatovat, že použitý polymer zde funguje jako solubilizátor.



**OBRAZEK 17** Disoluční profily pevných disperzí, fyzikálních směsí amorfnní i krystalické účinné látky s polymerem a samotné krystalické i amorfnní účinné látky.

## OBEČNÁ POZOROVÁNÍ

Tento experiment sleduje účinek metody použité pro přípravu pevné disperze na fyzikálně-chemický profil vzorku a na *in-vitro* chování materiálu. Do hodnocení bylo zařazeno 10 vzorků, každý připravený jiným způsobem. Každá z metod uděluje materiálu specifický soubor fyzikálních vlastností a ovlivňuje také chemické uspořádání komponent, které pevná disperze obsahuje.

Podobnost mezi vzorky v jednotlivých zkoumaných parametrech a důležitost těchto parametrů ve vztahu k disolučnímu chování materiálu je zobrazena ve dvojitéch grafech (tzv. biplot) analýzy hlavních komponent (PCA) a diskriminační analýzy metodou nejmenších čtverců (PLS-DA) – viz obrázky 18 a 19. Tyto analýzy byly vypracovány na základě dat obsažených v tabulce 7. Jako parametr reprezentující infračervená, resp. Ramanova spektra byla zvolena intenzita pásu při vlně, který má největší podíl na diferenciaci daných spekter – tj.  $1272\text{ cm}^{-1}$  pro infračervenou a  $1432\text{ cm}^{-1}$  pro Ramanovu spektrometrii.

Z obou posledně zmíněných grafů (obrázky 18 a 19) vyplývá, že faktorem, který má na rychlost uvolňování účinné látky největší vliv je specifický povrch a velikost částic.



Signifikantní jsou ale také parametry související s krystalinitou vzorku ( $T_g$ ) a s interakcemi mezi komponentami vzorků (IR a RS spektra), ačkoliv jejich podíl je ve srovnání se specifickým povrchem a velikostí částic menší.

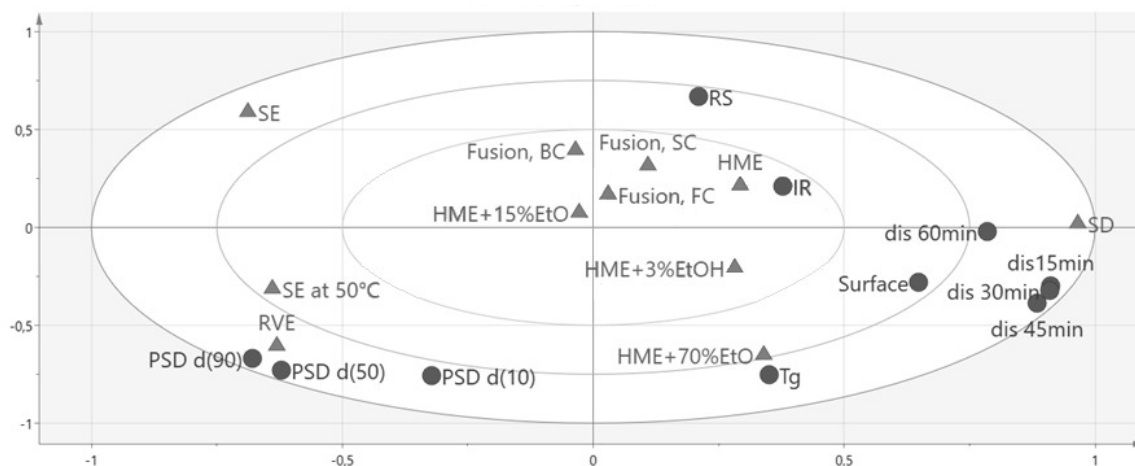
Ve dvou případech (SE and SE at 50 °C) byl získaný materiál hodnocen jako krystalická dvoufázová pevná disperze, zatímco všechny ostatní vzorky byly amorfními jednofázovými pevnými disperzemi. U nich je možné odhadnout 3 skupiny vzorků, které jsou si navzájem podobné fyzikálně (specifický povrch, velikost částic  $T_g$ ) a chemicky (ssNMR, IR spektra a Ramanova spektra). Tyto vzorky mají také podobné chování *in-vitro*. Takto lze vzorky podél PC1 na obrázku 18 rozdělit na základě rozpustnosti do tří pomyslných skupin. Zleva doprava jde o vzorky připravené metodou fusion (BC, SC, FC), další skupinou jsou vzorky HME a HME vystavené parám lihu a naposledy jde o vzorek připravený SD. V podobném směru (směr definovaný přímkou spojující počátek grafu s bodem  $T_g$ ) je možné pozorovat nárůst teploty skelného přechodu. To může souviset s homogenitou vzorku, která je nejnižší pro vzorky připravené metodami Fusion (BC, SC, FC), vyšší pro vzorky vycházející z materiálu připraveného hot-melt extruzí a nejvyšší u materiálu připraveného sprejovým sušením.

U vzorků připravených odpařováním rozpouštědla je možné dále pozorovat, že čím rychleji je rozpouštědlo odpařováno, tím menší jsou získané částice, větší specifický povrch a rychlejší uvolňování účinné látky. V případě vzorků připravených tavením nebyl pozorován významný vliv rychlosti ochlazování taveniny na rychlost uvolňování účinné látky. Tyto vzorky se vzájemně příliš neliší ani teplotou skelného přechodu. Dodatečné vystavení materiálu připraveného hot-melt extruzí parám ethanolu nezpůsobí změnu vnitřního uspořádání materiálu ve směru podobnosti s materiálem získaným sprejovým sušením. Páry ethanolu ale způsobí zvýšení teploty skelného přechodu a zpomalení rychlosti uvolňování účinné látky. To je možné interpretovat tak, že metody založené na mechanismu odpařování rozpouštědla vedou ke vzniku materiálu s výhodnějším chemickým uspořádáním komponent (vyšší  $T_g$  způsobí lepší stabilitu), zatímco jejich fyzikální vlastnosti zajistí lepší rozpustnost (nejmenší částice a největší specifický povrch materiálu připraveného SD) ve srovnání s materiálem získaného extruzí.

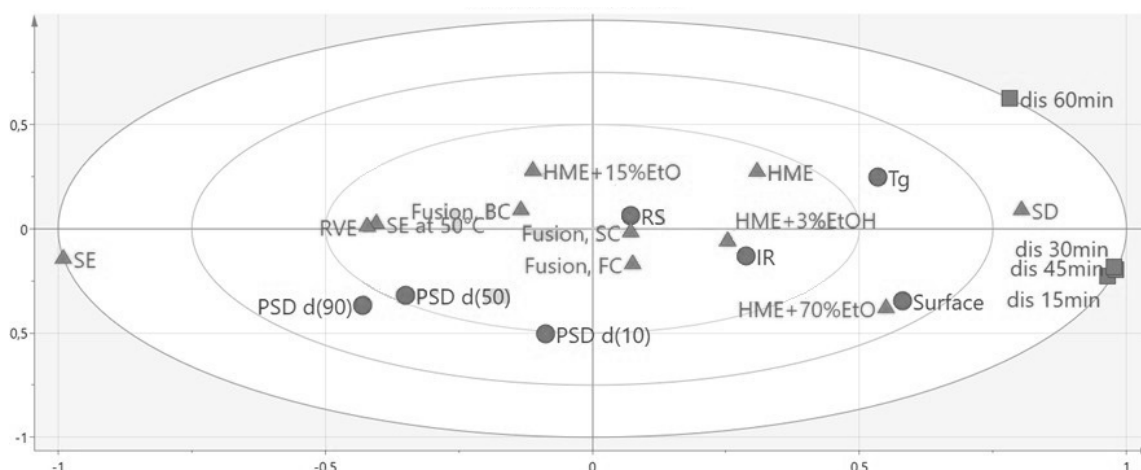
Chování pevných disperzí *in-vitro* lze vysvětlit na základě důkladných znalostí fyzikálně-chemických vlastností materiálu. Charakterizace disperzí pouze některou z použitých metod odděleně není pro vysvětlení rozdílů mezi vzorky dostatečná. Jednobodovou charakterizací (např. pomocí  $T_g$ ) lze použít jenom v případě, že jsou vzorky vyrobeny stejnou metodou.

Na porovnání vzorků připravených SD a HME je možné ukázat, že fyzikální vlastnosti jsou stejně důležité jako chemické uspořádání složek materiálu. Tyto dva vzorky jsou rozdílné svými fyzikálními vlastnostmi i vnitřním uspořádáním složek a přesto jsou si navzájem velmi podobné co do rychlosti uvolňování účinné látky. Zajímavé je, že malé změny ve vnitřním uspořádání mohou zapříčinit signifikantní změny v disolučním

chování. Na rozdíl od toho, změna fyzikálních vlastností musí být relativně významná, aby se disoluční chování materiálu výrazněji změnilo.



**OBRÁZEK 18** Souhrnná PCA analýza, dvojité graf (biplot) – zahrnující graf komponentního skóre (trojúhelníky) a graf zátěží (kolečka).



**OBRÁZEK 19** Souhrnná PLS-DA analýza, dvojité graf (biplot) – zahrnující graf komponentního skóre (trojúhelníky) a graf zátěží (kolečka) a jejich vliv na zkoumané parametry (čtverečky).

Ve skupině 10 vzorků pevných disperzí připravených různými metodami byly pouze dva z nich krystalické (tj. Vzorek SE a SE at 50 °C). Všechny ostatní vzorky byly amorfními pevnými disperzemi, tj. skelnými roztoky. Tento stav byl shodně potvrzen všemi relevantními technikami (ssNMR, IR spektrometrie, RS, mDSC).

U teploty skelného přechodu získané pomocí mDSC, ačkoliv rozdíly mezi jednotlivými vzorky nebyly velmi výrazné, je možné pozorovat vzestupný trend  $T_g$  v závislosti na principu metody přípravy použité pro konkrétní vzorek.

- Všechny vzorky připravené metodou založenou na principu tavení (tj. všechny metody Fusion bez ohledu na rychlost chlazení) měly  $T_g$  přibližně kolem 51 °C.
- Vzorek připravený hot-melt extruzí a všechny materiály připravené vystavení extrudátu parám ethanolu měly  $T_g$  kolem 58 °C.

- Amorfnní pevné disperze připravené metodou založenou na odpařování rozpouštědla (tj. SD a RVE) měly  $T_g$  přibližně 62 °C, což byly nejvyšší dosažené hodnoty.
- Zbývající dva vzorky (připraveny SE a SE at 50 °C) byly charakterizovány jednou teplotou skelného přechodu (amorfní část) a jednou teplotou tání (odpovídající teplotě tání krystalické účinné látky). To je také považováno za průkaz toho, že nejde o skelné roztoky (tj. účinná látka není molekulárně dispergována v polymerní matici).

Přestože mezi hodnotami specifického povrchu pro jednotlivé vzorky nejsou na první pohled výrazné rozdíly (u skelných roztoků byla min. hodnota 0,7 a max. hodnota 2,1 g/m<sup>2</sup>), jde v tomto experimentu o fyzikální charakteristiku materiálu s nejvýznamnějším vlivem na rychlost uvolňování účinné látky.

Jak bylo uvedeno dříve, nejmenší částice byly identifikovány u vzorku připraveného SD, naopak největší částice byly změřeny u vzorku připraveného RVE. Zajímavým zjištěním bylo, že ačkoliv částice vzorku připraveného metodou SE at 50 °C nejsou ve sledovaném souboru největší, mají nejmenší hodnotu specifického povrchu.

Dalším zajímavé pozorování souviselo se snímky získanými pomocí SEM a měřeními z mDSC u vzorků SE a SE at 50 °C. Oba tyto vzorky měly podle mDSC charakter krystalické pevné disperze. Na mikrosnímčích byly identifikovány nepravidelné částice, na jejichž povrchu bylo možné při větším zvětšení pozorovat další, mnohem drobnější jednotlivé částice připomínající krystaly – viz obrázek 16 B a C. V mnohem větší míře bylo možné tuto fázovou separaci pozorovat u vzorku SE.

Vznik krystalické fáze u vzorků SE a SE at 50 °C se projevila výrazným snížením rychlosti uvolňování účinné látky, zejména pak u vzorku SE, jehož disoluční profil byl ze všech vzorků nejpomalejší.

Naopak nejrychlejší disoluční profily byly pozorovány u vzorků připravených HME a SD. To je velmi zajímavé zjištění, protože tyto dva vzorky jsou výrazně odlišné teplotou skelného přechodu, plochou specifického povrchu i velikostí částic. Zároveň se tyto vzorky liší v IR i Ramanových spektrech, což bylo považováno za projev odlišného chemického uspořádání obou složek vzorků.

Podobně jako u výsledků mDSC lze i Ramanova spektra vizualizovaná pomocí PCA rozdělit do několika skupin. Vzájemně podobná Ramanova spektra tak mají amorfnní vzorky připravené metodou na principu odpařování rozpouštědla (tj. RVE a SD). Další podskupinou vzorků lokalizovaných v grafu komponentního skóre ve vzájemné blízkosti je vzorek HME a extrudáty vystavené parám lihu. Vedle nich (směrem doprava podél PC1) se nacházejí vzorky připravené metodou Fusion (všechny rychlosti ochlazování). Znovu platí, že skupiny nejsou ohraničené ostře, což znamená, že rozdíly nejsou velmi výrazné. V grafu komponentního skóre PCA infračervených spekter (obrázek 9) lze znovu identifikovat podobnost mezi vzorky RVA a SD. Zároveň, vzorky SE a SE at 50 °C jsou

lokalizované ve stejném kvadrantu jako fyzikální směs s obsahem krystalické účinné látky a jejich spektra lze považovat za podobná. To bylo také považováno za potvrzení výsledků mDSC, ssNMR a SEM, podle nichž byly tyto vzorky krystalické.

Překvapivé zjištění souvisí s porovnáním vzorků SD a HME. Oba tyto vzorky jsou v grafu komponentního skóre PCA infračervených i Ramanových spekter lokalizovány odlišně. To je považováno za důkaz toho, že intenzita interakcí mezi komponentami se u těchto vzorků odlišuje. Zároveň se tyto vzorky signifikantně liší i v dalších sledovaných parametrech ( $T_g$ , specifický povrch). Navzdory těmto zjištěním se vzorky SD a HME chovají velmi podobně v disolucích. Chování vzorku *in-vitro* je indikátorem jak fyzikálních vlastností materiálu, tak chemického uspořádání složek pevné disperze.

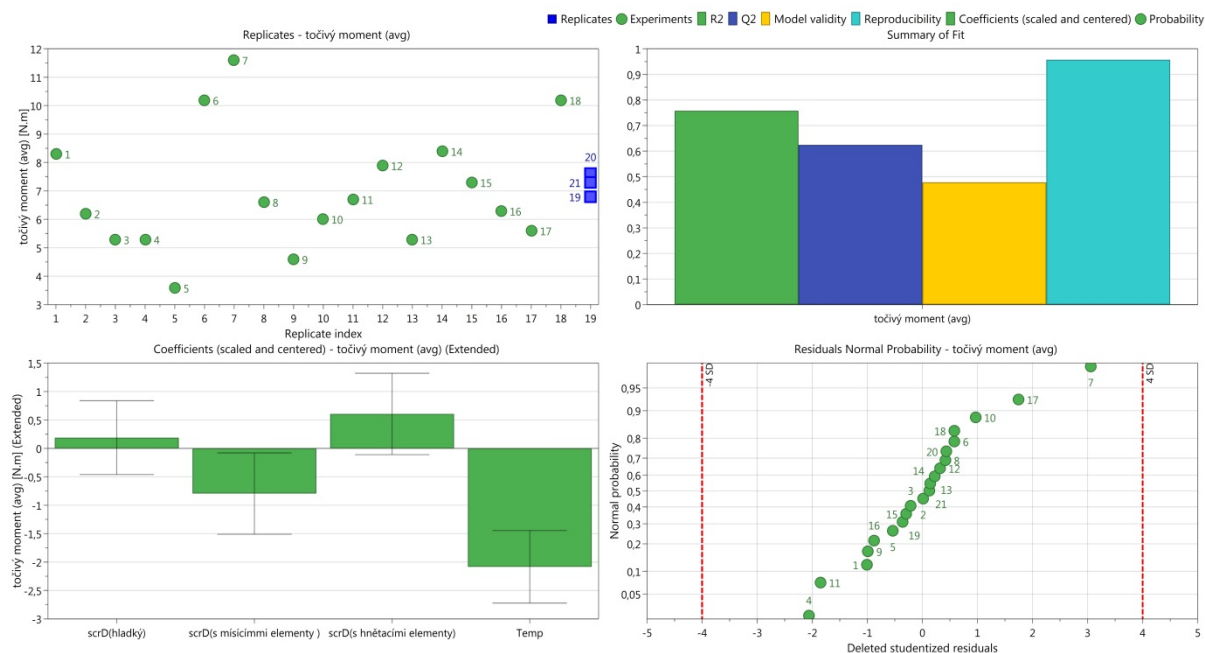
## 4.3 VLIV PROCESNÍCH PARAMETRŮ HOT-MELT EXTRUZE NA ATRIBUTY KVALITY PRODUKTU A PRŮBĚHU PROCESU

### 4.3.1 PŘEHLED ODEZEV V DÍLČÍCH EXPERIMENTECH

**TABULKA 8** Přehled výsledků jednotlivých dílčích experimentů.

Exp č.	točivý moment (avg)	Tg
	N.m	°C
1	8,3	60,1
2	6,2	58,4
3	5,3	58,7
4	5,3	61,0
5	3,6	58,4
6	10,2	60,8
7	11,6	63,0
8	6,6	60,4
9	4,6	59,3
10	6,0	58,4
11	6,7	60,3
12	7,9	60,3
13	5,3	59,5
14	8,4	60,6
15	7,3	60,3
16	6,3	58,4
17	5,6	59,1
18	10,2	60,9
19	6,8	59,5
20	7,6	60,2
21	7,3	60,7

### 4.3.2 HODNOCENÍ MODELU PRO ODEZVU TOČIVÝ MOMENT (AVG)



**OBRÁZEK 20** Graficky vyjádřený přehled parametrů pro hodnocení modelu.

**TABULKA 9** Číselné vyjádření parametrů pro hodnocení modelu točivý moment; (RSD – relativní směrodatná odchylka; N – počet proměnných v regresním modelu).

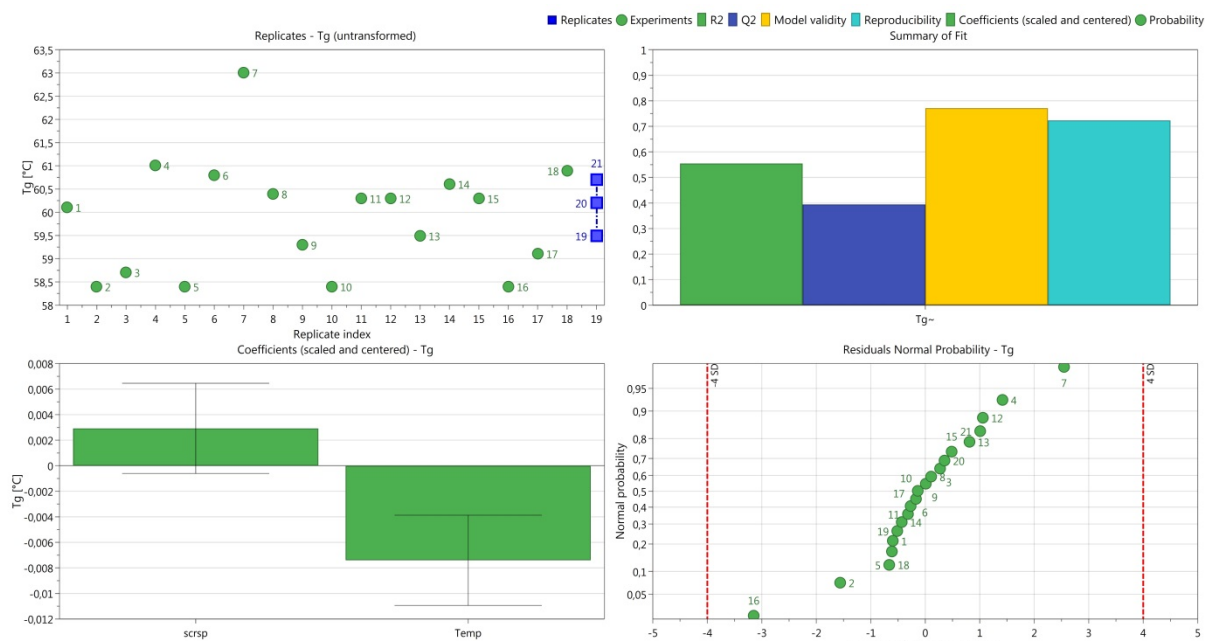
	R2	Q2	R2-Q2	RSD	N	Model Validity	Reproducibility
požadovaná hodnota	-	> 0,5	< 0,3	-	-	> 0,25	> 0,5
<b>točivý moment</b>	0,7412	0,5994	0,1418	1,1163	21	0,4474	0,9601

Variabilita mezi jednotlivými opakováními replikačních experimentů je výrazně nižší než rozdíly mezi hodnotami získanými pro různá nastavení procesu. Model odezvy *točivý moment* není v tomto ohledu zatížen významnou chybou.

S ohledem na sledované diagnostické parametry (R2, Q2) je model možné hodnotit jako kvalitní (blíže k jednotlivým ukazatelům kvality modelu a jejich požadovaným hodnotám viz 1.5.2). Model je platný a reprodukovatelný a je proto možné ho použít pro interpretaci vlivu zvolených faktorů na průběh točivého momentu.

V souboru dat je možné pozorovat jeden potenciálně odlehlý bod (#7, viz obrázek 20). Tento bod byl v modelu ponechán, jelikož jeho vyloučením se ostatní ukazatele kvality modelu výrazně nezměnily.

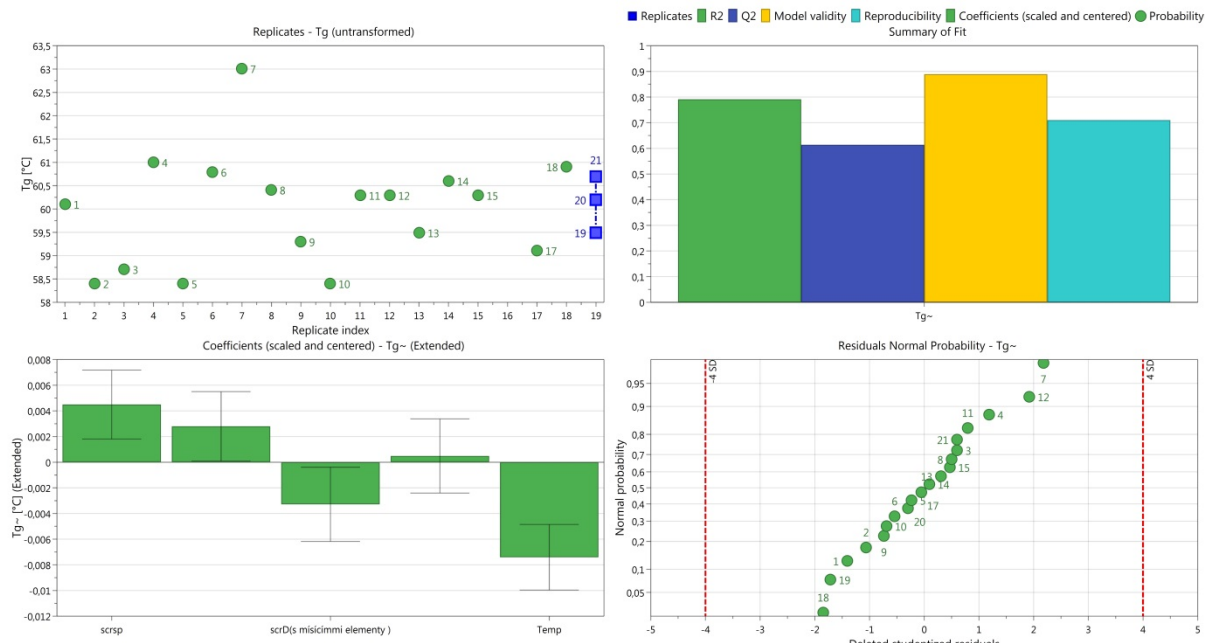
### 4.3.3 HODNOCENÍ MODELU PRO ODEZVU TEPLOTA SKELNÉHO PŘECHODU (T<sub>g</sub>)



**OBRAZEK 21** Graficky vyjádřený přehled parametrů pro hodnocení modelu – před vyloučením odlehlého bodu (#16).

Ze souboru experimentů použitých pro vytvoření regresního modelu pro odezvu *teplota skelného přechodu* byl vyloučen odlehlý bod (experiment #16, viz obrázek 21) a to z podezření ze zkreslení výsledku měření DSC tím, že byl extrudát velmi napěněný (nejvíce ve sledovaném souboru). Fázové rozhraní takového extrudátu má mnohem větší plochu a může tak změnit kinetiku vzniku pevného roztoku a tím i jeho vlastnosti. Opakování experimentu by nemělo význam, protože tento jev je pravděpodobně způsoben právě konkrétní kombinací nastavených parametrů pro tento experiment.

V upraveném souboru experimentů je možné pozorovat šum mezi replikačními experimenty (#19 až 21). Další parametry modelu ale ukazují na kvalitní, platný a reprodukovatelný model (viz obrázek 22 a tabulka 10).



**OBRÁZEK 22** Graficky vyjádřený přehled parametrů pro hodnocení modelu – po vyloučení odlehlého bodu; na diagramu koeficientů odpovídá druhý sloupec zleva hladkým šroubům a druhý sloupec zprava šroubům s hnětacími elementy.

**TABULKA 10** Číselné vyjádření parametrů pro hodnocení modelu točivý moment; (RSD – relativní směrodatná odchylka; N – počet proměnných v regresním modelu).

	R2	Q2	R2-Q2	RSD	N	Model Validity	Reproducibility
požadovaná hodnota	-	> 0,5	< 0,3	-	-	> 0,25	> 0,5
<b>Tg</b>	0,7915	0,6137	0,1778	0,0042	20	0,8893	0,7100

#### 4.3.4 INTERPRETACE MODELU

Nejvýznamnějším faktorem byla pro odezvu točivý moment podle očekávání teplota. Mezi těmito dvěma proměnnými je nepřímá úměrnost, tj. čím vyšší je teplota, tím nižší je točivý moment. Tento jev je spojen s viskozitou extrudované směsi, resp. viskozitou polymeru, která s rostoucí teplotou klesá a klade tak menší odpor otáčejícím se šroubům.

Dalším faktorem, který má, i když v menší míře než teplota, statisticky signifikantní vliv na odezvu točivý moment je rychlost otáčení šroubů. Úměra v tomto případě je přímá – čím větší je rychlost otáčení, tím vyšší je točivý moment.

Posledním statisticky signifikantním faktorem, ovlivňujícím točivý moment je design použitých šroubů. Zatímco použití šroubů s mísícími elementy se projeví nejnižším točivým momentem, je použití hladkých, resp. šroubů s hnětacími segmenty doprovázeno nárůstem točivého momentu, i když poslední dva jmenované nemusejí být



statisticky signifikantní. Vysvětlením může být právě snadnost posouvání materiálu skrz komoru zařízení. Zatímco chybějící šroubovice u šroubů s mísíci elementy (viz obrázek 5 - vpravo) umožňuje materiálu zpětný tok, hladký šroub posunuje materiál pouze vpřed. Uvažujeme-li navíc šrouby s hnětacími elementy, které nemají žádnou transportní kapacitu, je odpor, který klade materiál uvnitř komory otáčejícím se šroubům, rozložen na menší plochu závitu šroubu. To je spojené s nutností nárůstu síly (resp. točivého momentu), aby bylo možné zachovat stejný výkon zařízení (resp. zvolenou rychlost otáčení).

Ostatní sledované faktory (rychlost otáčení šroubů, rychlost plnění, průměr trysky) nebyly pro model statisticky signifikantní. Je třeba mít na paměti, že experimentální design je lineární a neuvažuje vzájemné interakce jednotlivých faktorů. Je možné, že při použití interakčního designu by se lépe projevilo vzájemné působení rychlosti plnění a rychlosti otáčení šroubů, které v lineárním designu zůstávají mírně pod úrovní statistické významnosti.

Zajímavým zjištěním je, že průměr trysky má na točivý moment pravděpodobně velmi zanedbatelný vliv. Zvýšení průřezu trysky tak podle modelu nevede ke snížení točivého momentu.

Teplota skelného přechodu byla podle vytvořeného modelu nejvíce závislá na procesní teplotě (viz obrázek 22). Čím vyšší je teplota komory, tím nižší je teplota skelného přechodu. Vysvětlení tohoto jevu bude pravděpodobně vyžadovat další, velmi podrobné zkoumání se zaměřením na intenzitu interakcí v závislosti na teplotě, gradientu ohřevu, resp. chlazení, době ohřevu (resp. rezidenčního času), atd.

Statisticky druhým nejvýznamnějším faktorem byla pro teplotu skelného přechodu rychlost otáčení šroubů. Čím vyšší je rychlost otáčení, tím vyšší je teplota skelného přechodu. Zde je pravděpodobně možné hledat spojitost s vlivem rychlosti otáčení šroubů na předchozí odezvu – točivý moment. Část mechanické energie (resp. rychlosti otáčení šroubů), se podle předchozího modelu, působením většího tření projeví nárůstem točivého momentu. Vzestup teploty skelného přechodu vlivem vyšší rychlosti otáčení šroubů, mohl naznačovat na to, že další část mechanické energie měla vliv na vzájemné uspořádání molekul obou komponent směsi. Jinými slovy byl materiál vlivem vyšší rychlosti otáčení šroubů lépe dispergovaný, což mohlo vést k četnějším interakcím mezi molekulami, jejichž projevem mohla být právě vyšší teplota skelného přechodu.

Podobná spojitost a vliv se pravděpodobně projevila i při použití různých šroubů. Šrouby s mísíci elementy měly za následek vznik pevného roztoku s nižší teplotou skelného přechodu. Vliv designu použitých šroubů je ale na hranici statistické významnosti.

Rychlost plnění a průměru použité trysky nemají na teplotu skelného přechodu vliv.

## 5. ZÁVĚRY

### 5.1 VÝBĚR POLYMERU A ZJIŠTĚNÍ VHODNÉHO POMĚRU ÚČINNÉ LÁTKY A POLYMERNÍHO NOSIČE

Metoda využívající spektrální zobrazovací metody (IR, Ramanova spektrometrie) je vhodná k posouzení fyzikálního stavu filmů obsahujících zvolené složení API:polymer, přináší výhodu oproti metodě založené na optické mikroskopii, avšak klade nemalé nároky na přípravu i hodnocení vzorků. Mezi analyzovanými směsmi byla nalezena složení vhodná pro tvorbu pevných disperzí (zejména Kollidon VA64 a Soluplus se 75 % m/m API). Hlavní nevýhodou všech podobných přístupů, založených na screeningu možných kandidátů, zůstává nutnost připravit vzorky v rozmezí koncentrací, z nichž je pak vybráno vhodné složení, které je možné použít k dalším experimentům, např. hodnocení zpracovatelnosti vybraným výrobním postupem. Výhodou může být možnost použití pro hodnocení směsí, které obsahují více komponent, které mohou interferovat s dalšími složkami směsi při hodnocení jinými metodami (např. překrývající se termogramy u mDSC).

### 5.2 VLIV METOD PŘÍPRAVY NA VLASTNOSTI PEVNÝCH DISPERZÍ

Bylo prokázáno, že každou metodou v tomto experimentu, použitou pro přípravu pevné disperze, vzniká materiál se specifickým souborem fyzikálních a chemických vlastností, které výrazně ovlivňují disoluční chování získaného materiálu. Nezáleží přitom pouze na mechanismu (odpařování, nebo tavení), na kterém je použitá metoda založena, ale i na konkrétních hodnotách zvolených parametrů (např. rychlost odpařování rozpouštědla). Ze získaných výsledků je patrné, že i samotná přítomnost polymerního nosiče (Soluplus) způsobuje zlepšení rozpustnosti modelové účinné látky (febuxostat).

U vzorků připravených hot-melt extruzí a sprejovým sušením byl pozorován podobný disoluční profil. Překvapivě však jde zároveň o vzorky, které se významně liší teplotou skelného přechodu, specifickým povrchem a velikostí částic. Zároveň byly mezi těmito vzorky pozorovány významné rozdíly v jejich IR a RS spektrech. Tyto rozdíly lze přičíst rozdílné intenzitě vzájemných interakcí obou složek připravených materiálů. Rozpustnost těchto konkrétních vzorků je lepší než rozpustnost fyzikálních směsí stejného složení.

### 5.3 Vliv procesních parametrů hot-melt extruze na atributy kvality produktu a průběhu procesu

Pro experimentální zjištění vlivu procesních parametrů hot-melt extruze na atributy kvality produktu ( $T_g$ ) a průběhu procesu (točivý moment) byl zvolen přístup statisticky navrženého experimentu. Zjišťován byl vliv pěti faktorů ve třech úrovních za pomoci lineárního modelu s 18 experimenty a 3 středovými body.

Pomocí modelu byly identifikovány kritické parametry procesu: hodnota točivého momentu během procesu je výrazně závislá na procesní teplotě a uspořádání (designu) použitých šroubů. Teplota skelného přechodu použitá jako kvalitativní parametr získaného produktu je nejvíce ovlivněna procesní teplotou. Zároveň bylo možné pomocí modelu popsat vliv těchto procesních parametrů a podmínek hot-melt extruze.

Zvolený typ modelu (lineární) neumožňuje odhalit interakce mezi jednotlivými faktory. Pro zvolený počet zkoumaných faktorů by nejjednodušším interakčním designem experimentu bylo nejméně 27 experimentů a 3 středovými body. Studované parametry (teplota, design šroubů, resp. rychlost otáčení šroubů) lze doporučit pro zahrnutí do experimentálního designu použitého pro optimalizaci procesu na konkrétním použitém zařízení (ThreeTec ZE 12).

## 6. LITERATURA

1. **Perrie Y., Rades T.** FASTrack Pharmaceuticals - drug delivery and targeting. London, UK : Pharmaceutical Press, 2010.
2. **Vo C.L.N., Park C., Lee B.J.** Current trends and future perspectives of solid dispersions containing poorly water soluble drugs. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 85 (2013): 799-813..
3. **Badens, E., Majerik V., Horváth G., Szokonya L., Bosc N., Teillaud E., Charbit G.** Comparison of solid dispersions produced by supercritical antisolvent and spray-freezing technologies. *International Journal of Pharmaceutics*. 377 (2009): 25-34.
4. **Verreck G., Six K., Van den Mooter G., Baert L., Peeters J., Brewster M.E.** Characterization of solid dispersions of itraconazole and hydroxypropylmethylcellulose prepared by melt extrusion - part I. *International Journal of Pharmaceutics*. 251 (2003): 165-174.
5. **Chiou W. L., Riegelman S.** Pharmaceutical Applications of Solid Dispersion Systems. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 60 (1971): 1281-1302.
6. **Leuner C., Dressman J.** Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 50 (2000): 47-60.
7. **Joe J. H., Lee W.M., Park Y.J., Joe K.H., Oh D.H., Seo Y.G., Woo J.S., Yong C.S., Choi H.G.** Effect of the solid-dispersion method on the solubility and crystalline property of tacrolimus. *International Journal of Pharmaceutics*. 395 (2010): 161-166.
8. **Huang Y., Dai W.G.** Fundamental aspects of solid dispersion technology for poorly soluble drugs. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 4 (2014): 18-25.
9. **Kawabata Y., Wada K., Nakatani M., Yamada S., Onoue S.** Formulation design for poorly water-soluble drugs based on biopharmaceutics classification system: Basic approaches and practical applications. *International Journal of Pharmaceutics*. 420 (2011): 1-10.
10. **Sotthivirat S., McKelvey C., Moser J., Rege B., Xu W., Zhang D.** Development of amorphous solid dispersion formulations of a poorly water-soluble drug, MK-0364. *International Journal of Pharmaceutics*. 452 (2013): 73-81.
11. **Kyeremateng S.O., Pudlas M., Woehrle G.H.** A fast and reliable empirical approach for estimating solubility of crystalline drugs in polymers for hot melt extrusion formulations. *Journal of pharmaceutical science*. 103 (2014): 2847 - 2858.
12. **Engers D., Teng J., Jimenez-Nuova J., Gent P., Hossack S., Capmbell C., Thomson J., Ivanisevic I., Templeton A., Byrn S., Newman A.** A Solid-State Approach to Enable Early

Development Compounds: Selection and Animal Bioavailability Studies of an Itraconazole Amorphous Solid Dispersion. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 99 (2010): 3901-3922.

13. **Serajuddin A.** Solid Dispersion of Poorly Water-Soluble Drugs: Early Promises, Subsequent Problems, and Recent Breakthroughs. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 88 (1999): 1058-1066.

14. **Simonelli A. P., Metha S. C., Higuchi W. I.** Dissolution rates of High Energy Sulfathiazole-Povidone coprecipitates II. *Journal of Pharmaceutical Science*. 65 (1976): 355-361.

15. **Broman E., Khoo C., Taylor L.S.** A comparison of alternative polymer excipients and processing methods for making solid dispersions of a poorly water soluble drug. *International Journal of Pharmaceutics*. 222 (2001): 139-151.

16. **Janssens, Sandrien a Van den Mooter, Guy.** Review: physical chemistry of solid dispersions. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 61 (2009): 1571-1586.

17. **Wlodarski K., Sawicki W., Haber K., Knapik J., Wojnarowska Z., Paluch M., Lepek P., Hawelek L., Tajber L.** Physicochemical properties of tadalafil solid dispersions – Impact of polymer on the apparent solubility and dissolution rate of tadalafil. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 94 (2015): 106-115.

18. **Fule R., Amin P.** Development and evaluation of lafutidine solid dispersion via hot melt extrusion: Investigating drug-polymer miscibility with advanced characterisation. *Asian journal of pharmaceutical sciences*. 92 (2014): 92-106.

19. **Newman A., Knipp G., Zografi G.** Assessing the Performance of Amorphous Solid Dispersions. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 101 (2012): 1355-1377.

20. **Konno H., Handa T., Alonzo D.E., Taylor L.S.** Effect of polymer type on the dissolution profile of amorphous solid dispersions containing felodipine. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 70 (2008): 493-499.

21. **Wu J.X., Yang M., van den Berg F., Pajander J., Rades T., Rantanen J.** Influence of solvent evaporation rate and formulation factors on solid dispersion physical stability. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 44 (2011): 610-620.

22. **Craig, D. Q.** The mechanisms of drug release from solid dispersions in water-soluble polymers. *International Journal of Pharmaceutics*. 231 (2002): 131 - 144.

23. **Dhirendra K., Lewis S., Udupa N., Atin K.** Solid dispersions: A Review. *Pakistan Journal of Pharmaceutical science*. 22 (2009): 234-246.

24. **Li Y., Pang H., Guo Z., Lin L., Dong Y., Li G., Lu M., Wu C.** Interactions between drugs and polymers influencing hot melt extrusion. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 66 (2013): 148-166.

25. **Chokshi R. J., Sandhu H.K., Iyer R.M., Shah N.H., Malick A.W., Zia H.** Characterization of Physico-Mechanical Properties of Indomethacin and Polymers to Assess their Suitability for Hot-Melt Extrusion Process as a Means to Manufacture Solid Dispersion/Solution. *Journal of Pharmaceutical Science*. 94 (2005): 2463-2474.
26. **Pina M. F., Zhao M., Pinto J. F., Sousa J.J., Craig D.Q.** The Influence of Drug Physical State on the Dissolution Enhancement of Solid Dispersions Prepared Via Hot-Melt Extrusion: A Case Study Using Olanzapine. *Journal of Pharmaceutical Science*. 103 (2014): 1214-1223.
27. **Kadam V.S., Bharkhad V.S, Jadhav S.B., Kute A., Chintale A.G.** Role of solid dispersion in improving solubility and dissolution rate: a comprehensive review. *World Journal of Pharmaceutical research*. 3 (2013): 1841-1860.
28. **Pouton C. W.** Formulation of poorly water-soluble drugs for oral administration: Physicochemical and physiological issues and the lipid formulation classification system. *European journal of pharmaceutical sciences*. 29 (2006): 278-287.
29. **Paudel A., Worku Z.A., Meeus J., Guns S., Van den Mooter G.** Manufacturing of solid dispersions of poorly water soluble drugs by spray drying: Formulation and process considerations. *International Journal of Pharmaceutics*. 453 (2013): 253-284.
30. **Paaver U., Heinämäki J., Laidmäe I., Lust A., Kozlova J., Sillaste E., Kirsimäe K., Veski P., Kogermann K.** Electrospun nanofibers as a potential controlled-release solid dispersion system for poorly water-soluble drugs. *International Journal of Pharmaceutics*. 479 (2015): 252-260.
31. **Dong Z., Chatterji A., Sandhu H., Choi D.S., Chokshi H., Shah N.** Evaluation of solid state properties of solid dispersions prepared by hot-melt extrusion and solvent co-precipitation. *International Journal of Pharmaceutics*. 355 (2008): 141-149.
32. **Liu J., Cao F., Zhang C., Ping Q.** Use of polymer combinations in the preparation of solid dispersions of a thermally unstable drug by hot-melt extrusion. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 3 (2013): 263-272.
33. **Patterson J.E., James M.B., Forster A.H., Lancaster R.W., Butler J.M., Rades T.** Preparation of glass solutions of three poorly water soluble drugs by spray drying, melt extrusion and ball milling. *International Journal of Pharmaceutics*. 336 (2007): 22-34.
34. **Chen Y.C., Ho H.O., Chiou J.D., Sheu M.T.** Physical and dissolution characterization of cilostazol solid dispersions prepared by hot melt granulation (HMG) and thermal adhesion granulation (TAG) methods. *International Journal of Pharmaceutics*. 473 (2014): 458-468).
35. **Maniruzzaman M., Boateng J.S., Snowden M.J., Douroumis D.** A Review of Hot-Melt Extrusion: Process Technology to Pharmaceutical Products. *International Scholarly Research Notices*. 2012.

36. **Crowley M. M., Zhang F., Repka M.A., Thumma S., Upadhye S.B., Kumar Battu S., McGinity J.W., Martin C.** Pharmaceutical Applications of Hot-Melt Extrusion: Part I. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 33 (2007): 909-926.
37. **Khatry S., Abbulu K.** Melt Extrusion – An overview. *International Journal Of Pharmacy&Technology*. 3 (2011): 685-703.
38. **Kolter K., Karl M., Gryczke A.** *Hot-Melt Extrusion with BASF Pharma Polymers - Extrusion compendium*. Ludwigshafen : BASF SE, 2011.
39. **Swarbrick J.** *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. New York : Informa Healthcare, 2007. 0-8493-9399-X.
40. **Breitenbach J.** Melt extrusion: from process to drug delivery technology. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 54 (2002): 107-117.
41. **Ghebre-Selassie I., Martin C.** *Pharmaceutical Extrusion Technology*. New York : Marcel Dekker, 2003. 0-8247-4050-5.46. **Douroumis, Dennis.** Hot - melt Extrusion: Pharmaceutical applications. Chichester, UK : Wiley, 2012.
42. **Douroumis, Dennis.** Hot - melt Extrusion: Pharmaceutical applications. Chichester, UK : Wiley, 2012.
43. **Reitz E., Podhaisky H., Ely D., Thommes M.** Residence time modeling of hot melt extrusion processes. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 85 (2013): 1200-1205.
44. **Repka M. A., Battu S.K., Upadhye S.B., Thumma S., Crowley M.M., Zhang F., Martin C., McGinity J.W.** Pharmaceutical Applications of Hot-Melt Extrusion: Part II. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 33 (2007): 1043–1057.
45. **Dhumal R.S., Kelly A.L., York P., Coates P.D., Paradkar A.** Cocrysalization and Simultaneous Agglomeration Using Hot Melt Extrusion. *Pharmaceutical research*. 27 (2010): 2725-2733.
46. **Patil H., Kulkarni V., Majumdar S., Repka M.A.** Continuous manufacturing of solid lipid nanoparticles by hot melt extrusion. *International Journal of Pharmaceutics*. 471 (2014):153-156).
47. **Witt C., Mäder K., Kissel T.** The degradation, swelling and erosion properties of biodegradable implants prepared by extrusion or compression moulding of poly(lactide-co-glycolide) and ABA triblock copolymers. *Biomaterials*. 9 (2000): 931-938.
48. **Ndindayino F., Henrist D., Kiekens F., Van den Mooter G., Vervaet C., Remon J.P.** Direct compression properties of melt-extruded isomalt. *International Journal of Pharmaceutics*. 235 (2002): 149–157.

49. **Vasanthavada M., Wang Y., Haefele T., Lakshman J.P., Mone M., Tong W., Joshi Y.M., Serajuddin M., Abu T.** Application of Melt Granulation Technology Using Twin-screw Extruder in Development of High-dose Modified-release Tablet Formulation. *Journal of Pharmaceutical Science*. 100 (2010): 1923-1934.
50. **Vynckier A.K., Dierickx L. Saerens L., Voorspoels J., Gonnissen Y., De Beer T., Vervaet C., Remon J.P.** Hot-melt co-extrusion for the production of fixed-dose combination products with a controlled release ethylcellulose matrix core. *International Journal of Pharmaceutics*. 464 (2014): 65-74.
51. **Baeyens V., Kaltsatos V., Boisrame B., Fathi M., Gurny R.** Evaluation of soluble bioadhesive ophthalmic drug inserts for prolonged release of Gentamycin: Lacrymal Pharmacokinetics and ocular tolerance. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*. 14 (1998): 263-272.
52. **Repka M.A., McGinity J.W.** Bioadhesive properties of hydroxypropylcellulose topical films produced by hot-melt extrusion. *Journal of Controlled Release*. 70 (2000): 341-351.
53. **Baird J.A., Taylor L.S.** Evaluation of amorphous solid dispersion properties using thermal analysis techniques. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 64 (2012): 396-421.
54. **Yoo S.U., Krill S.L., Wang Z., Telang C.** Miscibility/Stability Considerations in Binary Solid Dispersion Systems Composed of Functional Excipients towards the Design of Multi-Component Amorphous Systems. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 98 (2009): 4711-4723.
55. **Vandecruys R., Peeters J., Verreck G., Brewster M.E.** Use of a screening method to determine excipients which optimize the extent and stability of supersaturated drug solutions and application of this system to solid formulation design. *International Journal of Pharmaceutics*. 342 (2007): 168-175.
56. **Shanbhag A., Rabel S., Casadevall G., Shivanand P., Eichenbaum G., Manski P.** Method for screening of solid dispersion formulations of low-solubility compounds - Miniaturization and automation of solvent casting and dissolution testing. *International Journal of Pharmaceutics*. 351 (2008): 209 - 218.
57. **Amharar Y., Curtin V., Gallagher K.H., Healy A.M.** Solubility of crystalline organic compounds in high and low molecular weight amorphous matrices above and below the glass transition by zero enthalpy extrapolation. *International Journal of Pharmaceutics*. 472 (2014): 241-247.
58. **Paudel A., Vam Humbeeck J., Van den Mooter G.** Theoretical and Experimental Investigation on the Solid solubility and miscibility of Naproxen in Poly(vinylpyrrolidone). *Molecular pharmaceutics*. 7 (2010): 1133-1148.



59. **Mahieu A., Willart J.F., Dudognon E., Danéde F., Descamps M.** A New Protocol To Determine the Solubility of Drugs into Polymer Matrixes. *Molecular Pharmaceutics*.10 (2013): 560-566.
60. **Qian F., Huang J., Hussain M.A.** Drug–Polymer Solubility and Miscibility, Stability Consideration and Practical Challenges in Amorphous Solid Dispersion Development. *Journal of pharmaceutical sciences*. 99 (2010): 2941-2947.
61. **He Y., Ho C.** Amorphous Solid Dispersions: Utilization and Challenges in Drug Discovery and Development. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 104 (2015): 3237-3258.
62. **Just S., Sievert F., Thommes M., Breitzkreuz J.** Improved group contribution parameter set for the application of solubility parameters to melt extrusion. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 85 (2013): 1191-1199.
63. **Zecevic D.E., Wagner K.G.** Rational development of solid dispersions via hot-melt extrusion using screening, material characterization and numeric simulation tools. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 102(2013): 2297-2310.
64. **Marsac P.J., Shamblin S.L., Taylor L.S.** Theoretical and Practical Approaches for Prediction of Drug-Polymer Miscibility and solubility. *Pharmaceutical research*. 23 (2006): 2417.
65. **Yang Z., Nollenberger K., Albers J., Moffat J., Craig D., Qi S.** The effect of processing on the surface physical stability of amorphous solid dispersions. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 88 (2014): 897 - 908.
66. **Albers J., Matthée K., Knop K., Kleinebudde P.** Evaluation of predictive models for stable solid solution Formation. *Journal of Pharmaceutical Science*. 100 (2011): 667-680.
67. **Ivanisevic I., Bates S., Chen P.** Novel Methods for the assessment of miscibility of Amorphous drug-polymer dispersions. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 98 (2009): 3373-3386.
68. **Knopp M.M., Olesen N.E., Huang Y., Holm R., Rades T.** Statistical Analysis of a method to predict drug-polymer miscibility. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 105 (2015): 362-367.
69. **Parkih T., Gupta S.S., Meena A.K., Vitez I., Mahajan N., Serajuddin A.** Application of Film-Casting Technique to Investigate Drug–Polymer Miscibility in Solid Dispersion and Hot-Melt Extrudate. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 104 (2015): 2142-2152.
70. **Van Eerdenbrugh B., Taylor L.S.** Small Scale Screening To Determine the Ability of Different Polymers To Inhibit Drug Crystallization upon Rapid Solvent Evaporation. *Molecular Pharmaceutics*. 7 (2010): 1328-1337.

71. **Gendrin C., Roggo Y., Collet C.** Pharmaceutical applications of vibrational chemical imaging and chemometrics: a review. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 48 (2008): 533-553.
72. **Sacré P.Y., DeBleye C., Chavez P.F., Netchacovitch L., Hubert P., Ziemons E.** Data processing of vibrational chemical imaging for pharmaceutical applications. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 101 (2014): 123-140.
73. **Farkas A., Vajna B., Söti P.L., Nagy Z.K., Pataki H., Van der Gucht F., Marosi G.** Comparison of multivariate linear regression methods in micro-Raman spectrometric quantitative characterization. *Journal of Raman Spectroscopy*. 46 (2015): 566-576.
74. **Jérez Rozo J.I., Zarow A., Zhou B., Pinal R., Iqbal Z., Romanach R.J.** Complementary Near-Infrared and Raman Chemical Imaging of Pharmaceutical Thin Films. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 100 (2011): 4888-4895.
75. **Alexandrino G.L., Poppi R.J.** Study of the Homogeneity of Drug Loaded in Polymeric Films Using Near-Infrared Chemical Imaging and Split-Plot Design. *Journal of Pharmaceutical Science*. 103 (2014): 2356-2365.
76. **Netchacovitch L., Thiry J., DeBleye C., Chavez P.F., Krier F., Sacré P.Y., Evrard B., Hubert P., Ziemons E.** Vibrational spectroscopy and microspectroscopy analyzing qualitatively and quantitatively pharmaceutical hot melt extrudates. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 113 (2015): 21 - 33.
77. **Furuyama N., Hasegawa S., Hamaura T., Yada S., Nakagami H., Yonemochi E., Terada K.** Evaluation of solid dispersions on a molecular level by the Raman mapping technique. *International Journal of Pharmaceutics*. 361 (2008): 12-18.
78. **Nakamoto K., Urasaki T., Hondo S., Murahashi N., Yonemochi E., Terada K.** Evaluation of the crystalline and amorphous states of drug products by nanothermal analysis and Raman imaging. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 75 (2012): 105 - 111.
79. **Nagy Z.K., Balogh A., Vajna B., Farkas A., Patyi G., Kramarics A., Marosi G.** Comparison of Electrospun and Extruded Soluplus-Based Solid Dosage Forms of Improved Dissolution. *Journal of Pharmaceutical Science*. 101 (2012): 322-332.
80. **Kestur U.S., Wanapun D., Toth S.J., Weigel L.A., Simpson G.J., Taylor L.S.** Nonlinear Optical Imaging for Sensitive Detection of Crystals in Bulk Amorphous Powders. *Journal of Pharmaceutical Science*. 101 (2012): 4201-4213.
81. **Tres F., Treacher K., Booth J., Hughes L.P., Wren S.A., Aylott J.W., Burley J.C.** Real time Raman imaging to understand dissolution performance of amorphous solid dispersions. *Journal of Controlled Release*. 188 (2014): 53-60.

82. **Tres F., Patient J.D., Williams P.M., Treacher K., Booth J., Hughes L.P., Wren S.A., Aylott J.W., Burley J.C.** Monitoring the Dissolution Mechanisms of Amorphous Bicalutamide Solid Dispersions via Real-Time Raman Mapping. *Molecular Pharmaceutics*. 12 (2015): 1512-1522).
83. **Windbergs M., Haaser M., McGoverin C.M., Gordon K.C., Kleinebudde P., Strachan C.J.** Investigating the Relationship between Drug Distribution in Solid Lipid Matrices and Dissolution Behaviour Using Raman Spectroscopy and Mapping. *Journal of Pharmaceutical Science*. 99 (2010): 1464-1475.
84. **Padilla A.M., Pikal M.J.** The Study of Phase Separation in Amorphous Freeze-Dried Systems. Part I: Raman Mapping and Computational Analysis of XRPD Data in Model Polymer Systems. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 100 (2011): 206-222.
85. **Wegiel L.A., Mauer L.J., Edgar K.J., Taylor L.S.** Crystallization of Amorphous Solid Dispersions of Resveratrol during Preparation and Storage—Impact of Different Polymers. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 102 (2013): 171-183.
86. **Liu H., Zhang X., Suwardie H., Wang P., Gogos C.G.** Miscibility Studies of Indomethacin and Eudragit E PO by Thermal, Rheological, and Spectroscopic Analysis. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 101 (2012): 2204-2212.
87. **McGoverin C.M., Rades T., Gordon K.C.** Recent Pharmaceutical applications of Raman and terahertz spectroscopies. *Journal of pharmaceutical sciences*. 97 (2008): 4598 - 4621.
88. **Ueda H., Ida Y., Kadota K., Tozuka Y.** Raman mapping for kinetic analysis of crystallization of amorphous drug based on distributional images. *International Journal of Pharmaceutics*. 462 (2014): 115-122.
89. **Sethia S., Squillante E.** Solid dispersion of carbamazepine in PVP K30 by conventional solvent evaporation and supercritical methods. *International Journal of Pharmaceutics*. 272 (2004): 1-10.
90. **Lu Y., Tang N., Lian R., Qi J., Wu W.** Understanding the relationship between wettability and dissolution of solid dispersion. *International Journal of Pharmaceutics*. 465 (2014): 25-31.
91. **Kawakami K.** Current Status of Amorphous Formulation and Other Special Dosage Forms as Formulations for Early Clinical Phases. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 98 (2009): 2875-2885.
92. **Alonzo D.E., Gao Y., Zhou D., Mo H., Zhang G.G., Taylor L.S.** Dissolution and Precipitation Behavior of Amorphous Solid Dispersions. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 100 (2011): 3316 - 3331.

93. **Maniruzzaman M., Morgan D.J., Mendham A.P., Pang J., Snowden M.J., Douroumis D.** Drug–polymer intermolecular interactions in hot-melt extruded solid dispersions. *International Journal of Pharmaceutics*. 443 (2013): 199-208.
94. **Al-Obaid H., Lawrence M.J., Shah S., Moghul H., Al-Saden N., Bari F.** Effect of drug–polymer interactions on the aqueous solubility of milled solid dispersions. *International Journal of Pharmaceutics*. 446 (2013): 100-105.
95. **Ke P., Hasegawa S., Al-Obaid H., Buckton G.** Investigation of preparation methods on surface/bulk structural relaxation and glass fragility of amorphous solid dispersions. *International Journal of Pharmaceutics*. 422 (2012): 170-178.
96. **Agrawal A.M., Dudhedia M.S., Patel A.D., Raikes M.S.** Characterization and performance assessment of solid dispersions prepared by hot melt extrusion and spray drying process. *International Journal of Pharmaceutics*. 457 (2013): 71-81.
97. **Guns S., Dereymaker A., Kayaert P., Mathot V., Martens J.A., Van Den Mooter G.** Comparison Between Hot-Melt Extrusion and Spray-Drying for Manufacturing Solid Dispersions of the Graft Copolymer of Ethylene Glycol and Vinylalcohol. *Pharmaceutical Research*. 28 (2011): 673-682.
98. **Eriksson L., Byrne T., Johansson E., Trygg J., Vikström C.** Multi- and Megavariate data analysis basic principles and applications. Malmö : MKS Umetrics AB, 2013. ID # 2044.
99. **Stoyanova R., Brown T.R.** NMR spectral quantitation by principal component analysis. *NMR in biomedicine*. 14 (2001): 271-277.
100. **Rajalahti T., Kvalheim O.M.** Multivariate data analysis in pharmaceuticals: A tutorial review. *International Journal of Pharmaceutics*. 417 (2011): 280– 290.
101. **Johansson E., Kettaneh-Wold N., Wikström C., Wold S., Eriksson, L.** Design of Experiments Principles and applications. Umea : Umetrics academy, 2008. 978-91-973730-4-3.
102. **Verma S., Lan Y., Gokhale R., Burgess D.J.** Quality by design approach to understand the process of nanosuspension preparation. *International journal of Pharmaceutics*. 377 (2009): 185-198.
103. **Thiry J., Krier F., Evrard, B.** A review of pharmaceutical extrusion: Critical process parameters and scaling-up. *International Journal of Pharmaceutics*. 479 (2015): 227-240.
104. **Wu J.X., Yang M.** Influence of solvent evaporation rate and formulation factors on solid dispersion physical stability. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 44 (2011): 610-620.

## 7. PŘÍLOHY

### SEZNAM PRACÍ AUTORA

#### Publikace:

**Beneš M.**, Pekárek T., Krejčík L., Doležal P.: Application of spectroscopic imaging for characterising API: polymer systems as a screening tool for the development of potential amorphous solid dispersions. Acta Poloniae Pharmaceutica, 2017, XX (XX), přijato k publikování 13. 11. 2016. [IF 2015/2016: 0,877] – viz **příloha 1**

**Beneš M.**, Pekárek T., Beránek J., Havlíček J., Krejčík L., Šimek M., Tkadlecová M., Doležal P.: Methods for the preparation of amorphous solid dispersions - a comparative study. Journal of drug delivery science and technology, 38 (2017) 125 - 134. [IF 2015/2016: 0,77], doi: 10.1016/j.jddst.2017.02.005 – viz **příloha 2**

**Beneš M.**, Quality by Design - plánované řízení kvality ve farmaceutickém průmyslu. Chemické listy, 2017, XX (XX), přijato k publikování 17. 3. 2017. [IF 2015: 0,279] – viz **příloha 3**

#### Příspěvky na konferencích:

**Beneš M.**, Pekárek T., Doležal P., Pracovní den Sekce technologie léků České farmaceutické společnosti ČLS JEP, 21. 1. 2014: Experimentální přístupy k hodnocení rozpustnosti léčiv z BCS II při formulaci tuhých roztoků.

Patera J., Blažková K., **Beneš M.**, 3. Mezinárodní chemicko-technologická konference (ICCT 2015), spoluautorství příspěvku: A study of dissolution and stability kinetics of solid dosage form prepared by hot-melt extrusion.

## PŘÍLOHA 1

**Beneš M.,** Pekárek T., Krejčík L., Doležal P.: Application of spectroscopic imaging for characterising API: polymer systems as a screening tool for the development of potential amorphous solid dispersions. Acta Poloniae Pharmaceutica, 2017, XX (XX), přijato k publikování 13. 11. 2016. [IF 2015/2016: 0.877]

Pro tvorbu pevných disperzí je zásadní výběr vhodného polymerního nosiče a zvolení jeho poměru s léčivou látkou. Ačkoliv v této oblasti stále probíhá intenzivní výzkum a metod popsaných v literatuře je celá řada, žádná z nich není optimální. Nalezení vhodného polymeru je stále obtížné a probíhá obvykle způsobem pokus-omyl. [1, 61, 62, 65] To je jeden z důvodů, pro který zatím nebylo možné potenciálu pevných disperzí ve farmacii naplno využít. [1]

Zajímavou metodu pro hodnocení fyzikálního stavu pevných disperzí, použitelnou při vyhledávání vhodných směsí API s polymery popsal T. Parkih. [70] Je založena na hodnocení polymerního filmu obsahujícího polymer naneseného v tenké vrstvě na skleněnou desku (tzv. film casting) mikroskopii v polarizovaném světle.

Za největší přednost metody, založené na optickém hodnocení materiálu, autoři považují vyšší citlivost k odhalení krystalické příměsi ve srovnání s mDSC, která se k tomuto účelu jinak běžně používá. [70]

Jako hlavní nevýhodu metody autoři identifikovali možnost falešně pozitivního výsledku přítomnosti krystalické API u filmů, které nejsou intaktní, případně u rozetřených filmů sejmutých ze skleněné desky. Falešně pozitivní výsledek přítomnosti krystalu může vyvolat i poškozený film (např. kvůli rýze ve skleněné desce, na níž je film nanesen), který API vůbec neobsahuje. Ještě významnější riziko falešně pozitivního vyhodnocení platí pro materiál získaný jiným způsobem (např. hot-melt extruzí), který se před analýzou rozemele na drobné částice. Pro vývoj reprodukovatelné metody je proto nejvýhodnější hodnotit homogenně nanesené filmy. [70]

Vhodným nástrojem, jehož použitím je možné nevýhody optické mikroskopie v této aplikaci obejít, může být mapování filmů pomocí infračervené nebo Ramanovy spektrometrie. Pomocí těchto technik je možné vytvořit mapu filmu, která odhaluje chemickou povahu snímaných bodů filmu. Snímáním spekter, která odpovídají oblastem, v nichž jsou optickým mikroskopem pozorovány částice, je možné rozhodnout, zda jde o částice léčivé látky, případně jde-li o vadu filmu, rýhu apod. Spektrální metody dále umožňuje určit krystalickou/amorfní povahu identifikovaných částic, je-li rozdíl mezi spektry krystalické a amorfni formy léčivé látky dostatečně patrný. Tato metoda a její použití pro charakterizaci polymerních filmů obsahujících účinnou látku je podrobněji popsána ve článku v příloze 1. Tuto metodu je možné využít pro vyhledávání vhodného polymerního nosiče a jeho poměru s účinnou látkou pro tvorbu amorfních pevných disperzí.

1 **Title:** APPLICATION OF SPECTROSCOPIC IMAGING FOR CHARACTERISING API: POLYMER  
2 SYSTEMS AS A SCREENING TOOL FOR THE DEVELOPMENT OF POTENTIAL AMORPHOUS  
3 SOLID DISPERSIONS  
4  
5 **Author names and affiliations:**  
6 **Michal Beneš**  
7 michal.benes84@gmail.com  
8 Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy, Heyrovského 1203, Hradec Králové, 500  
9 05, Czech Rep.  
10  
11 **Tomáš Pekárek**  
12 Tomas.Pekarek@zentiva.cz  
13 Zentiva, k.s., U Kabelovny 130, Prague 10, 102 37, Czech Rep.  
14  
15 **Lukáš Krejčík**  
16 Lukas.Krejcik@zentiva.cz  
17 Zentiva, k.s., U Kabelovny 130, Prague 10, 102 37, Czech Rep.  
18  
19 **Pavel Doležal**  
20 Dolezal@faf.cuni.cz  
21 Charles University, Faculty of Pharmacy, Heyrovského 1203, Hradec Králové, 500 05, Czech  
22 Rep.  
23  
24  
25  
26 **Corresponding author:**  
27 Michal Beneš, phone number: +420 725 382 782, E-mail: michal.benes84@gmail.com  
28

29 **APPLICATION OF SPECTROSCOPIC IMAGING FOR CHARACTERISING API: POLYMER**  
30 **SYSTEMS AS A SCREENING TOOL FOR THE DEVELOPMENT OF POTENTIAL AMORPHOUS**  
31 **SOLID DISPERSIONS**

32 **Abstract**

33  
34 Raman and infrared mapping techniques were employed in this study for the  
35 characterisation of drug-polymer films cast on glass plates and for finding good amorphous  
36 solid dispersion formulation candidates containing dabigatran etexilate. To verify the results  
37 obtained from this approach, two common solvent evaporation-based solid dispersion  
38 processes were used for the preparation of samples and those samples were analysed  
39 conventionally, with solid state NMR and modulated DSC. Solid solutions containing  
40 amorphous dabigatran etexilate with a low probability of crystallization were identified,  
41 using mapping techniques in samples with 75% of drug dissolved in Kollidon K30 and in 50%  
42 of drug dissolved in Kollidon VA64 and Soluplus. On the contrary, all samples prepared by  
43 spray drying were characterized as solid solutions which may lead to crystallization of the  
44 API in certain concentrations. This was shown to be valid in materials containing kollidon  
45 VA64 and soluplus, respectively, and more than 50% of the API when prepared by solvent  
46 evaporation.

47 The experimental data obtained in this study proved that spectral mapping-based  
48 screening methods are able to identify potential candidates for amorphous solid dispersion  
49 formulations which are less prone to crystallization.

50  
51 **Key words:** mapping, polymer screening, solid dispersions,  
52

53 **Abbreviations:** ASDs, amorphous solid dispersion; SS, solid solution; IR, infra-red; XRPD, x-  
54 ray powder diffraction; mDSC, modulated differential scanning calorimetry; T<sub>g</sub>, glass  
55 transition temperature; QbD, quality by design; DE, Dabigatran etexilate; API, Active  
56 Pharmaceutical Ingredient; PCA, Principle Component Analysis; AFM, Atomic Force  
57 Microscopy; IR, infrared; RS; Raman spectroscopy

58 **1. Introduction**

59 Low water solubility is a major obstacle in developing effective drug delivery systems  
60 [1; 2]. Solid dosage forms of poorly water-soluble APIs are increasingly being formulated as  
61 amorphous solid dispersions (ASDs) to improve the API's aqueous dissolution and  
62 bioavailability. [3; 4] In the case of solid solutions, a specific kind of ASDs, the API's particle  
63 size has been reduced to its absolute minimum (molecular dimensions), which is considered  
64 to be the main attribute of increased solubility. [5] A further reason for the improved  
65 dissolution rate of ASDs is the absence of a crystal structure in a solid solution, which  
66 eliminates the energy input normally required to break up the crystalline structure of the  
67 drug before it can dissolve. [5; 6] For that same reason, amorphous compounds are  
68 metastable, negating any solubility advantage. [7; 8] Despite thorough investigation of ASDs,  
69 the potential of this approach in pharmaceuticals has not been fully utilised yet, among other



70 reasons because of the challenging determination of the solubility of crystalline drugs in  
71 polymer carriers. [9]

72 The solubility of a crystalline API in a polymer is of major importance also as concerns  
73 the physical stability or drug recrystallization tendency of a solid solution formulation at  
74 storage temperature. [3; 10] Certain polymers may inhibit nucleation or crystal growth. [1]  
75 Thus, to avoid recrystallization and achieve enhanced solubility, it is essential to select an  
76 appropriate ratio of a suitable carrier that will exhibit specific interactions with functional  
77 groups of the drug. [12]

78 There are many papers reporting various methods of determining drug  
79 solubility/miscibility in polymers. [12-15] Nevertheless, finding a suitable polymer and API  
80 loading remains difficult. [1; 17-19] And, the development of SSs in the industry remains  
81 largely a matter of trial and error. [18]

82 Given the large number of combinations, excipient selection and experimental design  
83 based on e.g. compound and polymer solubility parameters [19; 20] or Flory-Huggins lattice-  
84 based solution modelling [17; 19; 21] may provide a rationale for reducing the possible  
85 formulation candidates to be explored [14; 22].

86 A variety of analytical techniques can be employed to characterize pharmaceutical  
87 ASDs.

88 The preferred approach is to utilise a combination of a technique focused on the molecular  
89 level (i.e. spectroscopic methods) and another one focused on the particulate level (XRPD,  
90 thermal method, or microscopy), to achieve a comprehensive understanding of the solid-  
91 state properties [23-25].

92 Efficient approaches to drug polymer miscibility determination are based on the  
93 miniaturisation and automation of formulation preparation by the solvent evaporation  
94 method (e.g. film casting, spin coating) with high-throughput dissolution testing of the  
95 material prepared [14; 25]. An indirect strategy has been described [16], based on the  
96 precipitation of an API from a supersaturated API/polymer solid solution. Another technique  
97 consists of the production of a saturated amorphous phase and the extrapolation of the zero  
98 enthalpy for the determination of the composition. [1] Another paper described the Pure  
99 Curve Resolution Method which is based on the calibration of XRPD patterns of single  
100 components and solid dispersions at different ratios. [25] A method based on the measure  
101 of the material melting point depression was shown not to be sufficiently reliable. [26] Next,  
102 a viable method based on an evaluation of cast films evaluated by polarized light  
103 microscopy, DSC and XRPD was shown by Parkih et al. [27] A possible disadvantage of this  
104 method was identified by the authors, as broken films can provide a wrong impression of the  
105 presence of crystals. Nevertheless, the potential of the technique is high being relatively fast  
106 with sensitivity superior to DSC. [27] Another similar method was described in which the  
107 samples were prepared by spin-coating and investigated for their crystallinity by polarized  
108 microscopy. [29] Further techniques for the determination of the solubility of a drug in a  
109 polymer matrix were discussed e.g. in a review paper by Feng et al. [18] and by He et al. [19]

110 A very powerful tool suitable for dosage form development and analyses is chemical  
111 imaging, which combines both spatial distribution and spectral information. Many different  
112 pharmaceutical applications of imaging techniques have been widely reported [28-47]. In  
113 relation to ASDs its ability to quantify crystallinity [15] and reveal phase separation [42] is of  
114 major importance. The key advantage of Raman spectroscopy is access to the low-  
115 wavenumber region that has been demonstrated to be extremely sensitive to differences  
116 between amorphous and crystalline forms, which can be advantageous in comparison to  
117 traditional light microscopy. Raman imaging techniques can achieve a spatial resolution at  
118 the sub-micron level, while the maximum for IR is diffraction limited to 1-2  $\mu\text{m}$ , although in  
119 practice it has been reported that the maximum resolution is 4  $\mu\text{m}$ . [40] The Raman mapping  
120 technique was shown to be superior to calorimetry for detecting phase separation in  
121 systems which do not exhibit detectable glass transitions. [47]

122 The present study represents an application of the IR and RS mapping techniques in  
123 ASD-based formulation polymer screening. Dabigatran etexilate was used as a BCS 2 drug  
124 that is prone to hydrolysis, which makes the molecule difficult to formulate. Thus, ASD is a  
125 great option to be used for this API. Film casting was used for the preparation of the  
126 samples, which is a simple method that can provide the desired information on the  
127 miscibility of the components faster and is more likely to reveal mixtures which tend to  
128 recrystallize than a concentration range of samples prepared by spray drying.

## 129 2. Materials and methods

### 130 2.1. Materials

131 Soluplus®, Kollidon VA64 and Povidone K30 were obtained from BASF  
132 (Germany), Dabigatran etexilate (DE) was synthesised in-house in pharmaceutical  
133 quality, complying with pharmacopoeial requirements (supplied by Zentiva, k.s.).  
134 Ethanol 96% (v/v) was used in pharmacopoeial (Ph.Eur.) quality.

### 135 2.2. Solutions for Solid dispersion preparation

136 Three different polymers were used for the preparation of solid dispersions:  
137 Kollidon VA64, Povidon K30, and Soluplus. Solid dispersions were prepared with the  
138 API to polymer w/w ratios of 1:9, 1:3, 1:1, and 3:1. In each case, 5 g of the  
139 drug:polymer mixture was dissolved in 75 g of Ethanol (96% w/w). For each mixture,  
140 one clear solution was prepared and subsequently used for all three methods of  
141 preparation (spray drying, solvent evaporation, and film casting).

### 142 2.3. The film casting method

143 The appropriate amount of DE was dissolved in 75 g of ethanol. Afterwards, the  
144 appropriate amount of polymer (for the exact composition of all samples, see  
145 section 2.2) was added and stirred until a clear solution was obtained.  
146 Approximately 2-3 ml of the solution were cast on a glass plate using a special blade  
147 supplied by BASF specifically for the film casting of polymer solutions. Glass plates  
148 carrying the cast film were left on a laboratory bench until the ethanol evaporated  
149 completely (approx. 3 days).

### 150 2.4. Solvent evaporation

151 10 ml of the same solution that was used for the film casting method was put in a  
152 Petri dish. The Petri dish was left on a laboratory bench (approx. 25 °C, 40% RH) until  
153 the ethanol evaporated completely (approx. 1-2 weeks).

#### 154 2.5. Spray drying

155 The solutions described in paragraph 2.2. were used for spray drying in a Büchi  
156 Mini spray dryer B-290. A lab dryer was used for spray drying with the following  
157 settings: aspirator 85%; pump 25%, process nitrogen temperature 88 °C,  
158 temperature of the inert loop -15 °C.

#### 159 2.6. Modulated differential scanning calorimetry

160 The thermal characteristics of pure materials and solid dispersions of DE with  
161 polymers were determined on a Discovery DSC (TA Instruments, USA). The samples  
162 were weighed in aluminium pans with covers (ca 40 µL) and measured in a nitrogen  
163 flow. Investigations were performed at a temperature range of 0 °C to 200 °C with a  
164 heating rate of 5 °C / min (Amplitude = 0.8 °C a Period = 60 s). The temperatures  
165 specified in relation to DSC analyses are the temperatures of the peak maxima and  
166 the onset temperature of peaks for the melt temperature (T<sub>m</sub>) of the crystalline  
167 form and the glass transition temperature (T<sub>g</sub>) for the amorphous form,  
168 respectively. The enthalpy is given in J / g. The sample weight was about 3 - 5 mg.

#### 169 2.7. Raman spectroscopy imaging

170 The maps were collected using a dispersive Raman system InVia Reflex (Renishaw,  
171 GB), 50x objective, with the excitation laser line at 785 nm. Each spectrum was  
172 accumulated in 0.1 s. Over 110,000 spectra were accumulated for each map with 2.8  
173 µm step, i.e. analysed area was approx. 1 x 1 mm.

#### 174 2.8. IR spectroscopy imaging

175 IR spectra of the samples were obtained with an iN10MX spectrometer (Thermo,  
176 USA), using an MCT detector cooled by liquid nitrogen in a reflection arrangement.  
177 Each spectrum was acquired by the accumulation of one scan with a 16cm<sup>-1</sup> spectral  
178 resolution. 40,000 spectra were accumulated for each map with 30 µm step, i.e., the  
179 analysed area was 6 x 6 mm.

#### 180 2.9. Solid-state Nuclear Magnetic Resonance

181 <sup>13</sup>C Cross Polarization-Magic Angle Spinning solid state NMR spectra were  
182 measured on a Bruker 400 WB spectrometer (Bruker Biospin, GmbH, Germany) in 4  
183 mm rotors with 13 kHz spinning frequency. The number of scans varied in the range  
184 of 1000-5000 scans using a contact time of 2 ms, a repetition time of 5s and a  
185 spectral width of 300 ppm.

### 186 3. Results and discussion

187 Three methods were used for the preparation of the solid dispersion samples: spray  
188 drying, solvent evaporation, and film casting.

189 Different concentrations of the drug were used for the preparation of the samples (see  
190 section 2.2, and 2.3, resp.). Lowest concentrated samples were measured first using mDSC  
191 (in case of samples prepared by solvent evaporation and spray drying) and mapping

192 techniques (in case of cast films), then samples with higher concentrations were analysed,  
193 until a second-phase admixture (crystalline or amorphous) was detected in the sample.

194 First, all samples prepared by solvent evaporation and spray drying were analysed  
195 using DSC. The DSC results (table 1) identified a solid solution in all the samples prepared by  
196 spray drying. The amorphous character of all samples prepared by SD was confirmed by the  
197 ssNMR measurements of samples which contained all three polymers in their highest  
198 loading.

199 Among the samples prepared by solvent evaporation, a solid solution was found in all  
200 the samples which contained 10 and 25% of the drug and in samples which contained  
201 Kollidon VA64 and Soluplus in a drug load of 50%. All the samples prepared by solvent  
202 evaporation, which were identified by DSC as solid solutions, were also proven amorphous  
203 by ssNMR. Spectra from ssNMR for the selected samples containing Soluplus as the polymer  
204 carrier are shown in figure 1. In the spectrum of the sample prepared by solvent evaporation  
205 and containing Soluplus and 75% of the drug (C), sharp signals of crystalline API can be  
206 observed. These signals are not present in the spectra of the sample which was prepared by  
207 solvent evaporation and consisted of Soluplus and 50% of the drug (B), and in the sample  
208 prepared by spray drying, which contained Soluplus and 75% of the drug (D). Those samples  
209 contained, aside from Soluplus, other broad signals corresponding to the amorphous API.

210 Interestingly, in the sample composed of PVP with an API load of 50%, two Tgs were  
211 identified by mDSC indicating that a single-phase ASD was not achieved and would thus be  
212 less likely to have good physical stability, although this composition was found amorphous  
213 when prepared by spray drying. In addition to that, no API particles were found in the  
214 sample of this composition by the imaging mapping methods (both Raman and IR). All of the  
215 highest loading samples prepared by solvent evaporation remained crystalline.

216 Complete mutual conformity can be observed between data from ssNMR and DSC in  
217 the samples prepared by solvent evaporation and by spray drying, as all the samples  
218 prepared by solvent evaporation characterised with single Tg from the DSC were confirmed  
219 as amorphous by ssNMR.

220 Differences in DSC results were observed between samples of equal composition  
221 prepared by different methods: samples prepared by spray drying tend to have a higher  
222 glass transition temperature than those prepared by solvent evaporation. The discrepancy is  
223 likely to be attributed to inferior solvent removal, which occurs to a lower extent in samples  
224 prepared by solvent evaporation. The potential of a higher content of residual solvent may  
225 lead to higher molecular mobility in the samples and thus to a stronger tendency to  
226 recrystallize.

227 Another observation was related to the trend of increasing glass transition  
228 temperature linked with descending drug loading (see table 1), which is apparent  
229 in particular in spray dried samples containing Povidone K30 and Kollidon VA64 as the  
230 polymer carrier, all along the API load range. This was not observed in the case of samples  
231 containing Soluplus as the polymer carrier, mixtures of which were equal (drug loadings 10,  
232 25, and 50%) in terms of their glass transition temperatures regardless of the drug loading.

233 In general, all samples containing Soluplus were characterized by a low glass transition  
234 temperature, which is a sign of inferior stability in comparison with other samples (i.e. those  
235 which contained Povidone K30 or Kollidon VA64).

236 Second, cast films were analysed using Raman and IR mapping. Those samples in which  
237 no API particles and/or more concentrated regions were identified in the spectral maps were  
238 classified as solid solutions. Particles identified in the films were taken as a sign of the  
239 samples not being in the form of a solid solution. This applies to the samples which  
240 contained Kollidon VA64 (not shown) and Soluplus (shown in figure 2a and 2b) in the highest  
241 and second highest loadings tested in the study (75% and 50%, respectively). Individual  
242 spectra were collated into maps using PCA. Distinct spectra were identified applying this  
243 approach, which display different API concentration regions in contrast with an otherwise  
244 homogeneous sample. This makes it possible to reveal areas where amorphous particles are  
245 formed within the samples and/or crystallization is more likely to occur. This level of  
246 characterization is superior to optical microscopy, as this technique displays only formed  
247 particles. Maps were evaluated by PCA and clustered according to their spectral shape  
248 regardless of the polymorphic form, i.e. solid solution spectra were different from those of  
249 the API. Extremely sharp and intensive spectra were excluded from the PCA in order to  
250 eliminate interference with e.g. secluded cosmic rays spectra.

251 Despite the differences in the spatial resolution of the Raman and infrared (IR)  
252 mapping methods used, complete agreement was achieved between the results of both  
253 imaging (Raman and IR) methods. At the same time, complete correspondence was  
254 observed between solubility determined on cast films by chemical imaging and by the  
255 solvent evaporation method evaluated by a combination of conventional techniques (DSC  
256 and ssNMR). IR/RS maps were not analysed for those samples as they do not have a  
257 structure of film. DSC and NMR data for the samples prepared by spray drying do not  
258 correspond to the imaging method results of samples prepared as cast films.

259 This discrepancy can be explained by the solvent evaporation rates of the particular  
260 method of preparation, which was similar for the cast film and solvent evaporation methods,  
261 both of which were run under laboratory conditions, but were much faster in the case of  
262 spray drying. The higher the solvent evaporation rate was, the lower was the nucleation  
263 within the samples, leading to more homogeneous amorphous solidification [8]. The data  
264 showed that the lower evaporation rate technique is, however, more likely to find systems  
265 more prone to phase separation, which makes it more suitable for the screening purposes.  
266 The more homogeneously a drug is dispersed among the polymer chains of the sample, the  
267 more energy needs to be supplied in order to allow the molecular chains to slide past each  
268 other, which can be indicated as a higher glass transition temperature.

269 Therefore, solid solutions were achieved in all samples prepared by spray drying.  
270 However in the case of solvent evaporation and cast films, solid solutions were not identified  
271 in the Kollidon VA64 and Soluplus samples with a drug loading of 75% w/w. This corresponds  
272 to the imaging results from cast films.

273 Currently, melt extrusion is the method of choice for the manufacturing of solid  
274 dispersions. A formulation prepared by solvent evaporation and film casting cannot,  
275 however, be expected to have characteristics identical to those of a formulation prepared by  
276 melt extrusion [14]. Although processing is important, the inherent physical-chemical  
277 interactions of the formulation components are equally critical to formulation performance  
278 Thus, a further investigation of the influence of the manufacturing method on the quality  
279 attributes of solid dispersions, which are stability and solubility, needs to be undertaken.

280 A more detailed comparison of the methods' pros and cons is presented in Table 3.  
281 The main drawback of the procedure using the mapping method is the preparation of the  
282 samples, which is time-demanding and requires certain experience in order to achieve a  
283 good quality, bubble-free surface. According to the table, though, there are many  
284 advantages of the mapping techniques over the combination of conventional methods.  
285 Above all, a deep understanding can be provided in a single measurement. In spite of this  
286 fact, there are rather few works in scientific literature devoted to chemical imaging in  
287 connection with solid dispersion-based formulation screening methods.

#### 288 4. Conclusion

289  
290 A solid solution containing a dabigatran base was achieved in all the samples when  
291 prepared by spray drying and characterized by a combination of mDSC and ssNMR. Some of  
292 those samples were, however, identified as more prone to API crystallization. This was  
293 shown by Raman and infrared mapping and evidenced by a set of samples prepared by  
294 solvent evaporation in case of the sample containing kollidon VA64 and 75% of the API and  
295 the sample containing soluplus and the same API loading (75%). On the contrary, samples  
296 containing 50% of Kollidon VA64 and soluplus, and all samples containing kollidone K30 were  
297 identified as good candidates for dabigatran containing ASD formulations.

298 Thus, the chemical imaging method is considered being a suitable and advantageous  
299 tool for indicating the solid state of pharmaceutical solid dispersions when combined with  
300 film casting.

301 In the results of vibrational imaging used for the characterisation of cast films, good  
302 consistency was found with data obtained from a combination of two conventional  
303 analytical techniques used in this study (NMR, DSC), acquired from samples prepared by the  
304 solvent evaporation method. The data indicate that the imaging-based method was able to  
305 provide the same conclusion about the solubility of the drug in the polymer and as such can  
306 be used for solid dispersion-based formulation screening, which should help overcome the  
307 difficulties encountered in the selection of the right polymer and drug polymer ratio in all  
308 solid dispersion techniques. Also, the spectral mapping method may be used for analysing  
309 multi-component mixtures, which would be of a great advantage as compared to  
310 conventional techniques. Nevertheless, in polymer screening, a combination of techniques  
311 used for sample preparation can identify systems having a higher potential of phase  
312 separation. Furthermore, this information is gained faster (days versus weeks) in comparison

313 with conventional analytical tools used for the characterization of samples prepared by  
314 solvent evaporation.

315

316 **Acknowledgements**

317 This study was supported by Zentiva, k.s., the Prague Development Site.

318 This study was partially supported from the specific research project 260 291 of Charles  
319 University in Prague.

320 The authors thank Marcela Tkadlecová and Jaroslav Havlíček for providing strong support in  
321 NMR spectra acquisition and evaluation.

322

323

324 **References**

- 325 1. Perrie Y., Rades T.: Pharmaceuticals - drug delivery and targeting. Pharmaceutical Press,  
326 London 2010.
- 327 2. Le -Ngoc Ch., Park C., Lee B.J.: Eur. J. Pharm. Biopharm. 18, 799 (2013).
- 328 3. Kyeremateng S.O., Pudlas M., Woehrle G.D.: J. Pharm. Sci. 103, 2847(2014).
- 329 4. Engers D., Teng J., Jimenez-Novoa J., Gent P., Hossack S., Campbell Ch., Thomson J.,  
330 Ivanisevic I., Templeton A., Byrn S.: J. Pharm. Sci. 99.9, 3901 (2010).
- 331 5. Leuner Ch., Dressman J.: Eur. J. Pharm. Biopharm. 7, 47 (2000).
- 332 6. Newman A., Knipp G., Zografi G.: J. Pharm. Sci. 101, 1355 (2012).
- 333 7. Hajime K., Handa T., Alonzo D.E., Taylor L.S.: Eur. J. Pharm. Biopharm. 70, 493 (2008).
- 334 8. Wu J.X., Yang M., van den Berg F., Pajander J., Rades T.: Eur. J. Pharm. Sci. 44, 610 (2011).
- 335 9. Simonelli A.P., Metha S.C., Higuchi W.I.: J. Pharm. Sci. 65.3, 355 (1976).
- 336 10. Yoo S., Krill S.L., Chitra Z.W.: J. Pharm. Sci. 98.12, 4711 (2009).
- 337 11. Douroumis D.: Hot - melt Extrusion: Pharmaceutical applications. Wiley, Chichester 2012.
- 338 12. Shanbhag A., Rabel S., Casadevall G., Shivanand P., Eichenbaum G., Mansky P.: Int. J.  
339 Pharm. 351, 209 (2008).
- 340 13. Amharar Y., Curtin V., Gallagher K.H., Healy A.M.: Int. J. Pharm. 472, 241 (2014).
- 341 14. Paudel A., Vam Humbeeck J., Van den Mooter G.: Mol. pharm. 4, 1133 (2010).
- 342 15. Mahieu A., Willart J.F., Dudognon E., Danède F., Descamps M.: Mol. Pharm. 10, 560  
343 (2013).
- 344 16. Marsac P.J., Shamblin S.L., Taylor L.S.: Pharm. Res. 23.10, 2417 (2006).
- 345 17. Qian F., Huang J., Hussain M.A.: J. Pharm. Sci. 99.7, 2941 (2010).
- 346 18. He Y., Ho Ch.: J. Pharm. Sci. 104, 3237 (2015).
- 347 19. Just S., Sievert F., Thommes M., Breitzkreutz J.: Eur. J. Pharm. Biopharm. 85.3, 1191  
348 (2013).
- 349 20. Yang Z., Nollenberger K., Albers J., Moffat J., Craig D., Qi S.: Eur. J. Pharm. Biopharm. 88,  
350 897 (2014).
- 351 21. Zecevic D.E., Wagner K.G.: J. Pharm. Sci. 102, 2297 (2013).
- 352 22. Chieng N., Rades T., Aaltonen J.: J. Pharm. Biopharm. Anal. 55, 618 (2011).



- 353 23. Albers J., Matthée K., Knop K., Kleinebudde P.: J. Pharm. Sci. 100.2, 667 (2011).
- 354 24. Ivanisevic I., Bates S., Chen P.: J. Pharm. Sci. 98,3373 (2009).
- 355 25. Knopp M.M., Olesen N.E., Huang Y., Holm R., Rades T.: J. Pharm. Sci. 105, 362 (2016).
- 356 26. Parkih T., Gupta S.S., Meena A.K., Vitez I., Mahajan N., Serajuddin A.: J. Pharm. Sci. 104,  
357 2142 (2015).
- 358 27. Sóti P.L., Nagy Z.K., Serneels G., Vajna B., Farkas A., Van der Gucht F., Fekete P., Vigh T.,  
359 Wagner I., Balogh A., Pataki H.: Eur. Pol. J. 68, 671 (2015).
- 360 28. Gendrin C., Roggo Y., Collet C.: J. Pharm.Biomed. Anal. 48.3, 533 (2008).
- 361 29. Sacré P.Y., De Bleye C., Chavez P.F., Netchacovitch L., Hubert P., Ziemons E.: J. Pharm.  
362 Biomed. Anal. 101, 123 (2014).
- 363 30. Farkas A., Vajna B., Sóti P.L., Nagy Z.K., Pataki H., Van der Gucht F., Marosi G.: J. Raman  
364 Spectrosc. 46, 566 (2015).
- 365 31. Jérez Rozo J.L., Zarow A., Zhou B., Pinal R., Iqbal Z., Romañach R.J.: J. Pharm. Sci. 100,  
366 4888 (2011).
- 367 32. Alexandrino G.L., Poppi R.J.: J. Pharm. Sci. 103, 2356 (2014).
- 368 33. Netchacovitch L., Thiry J., De Bleye C., Chavez P.F., Krier F., Sacré P.Y., Evrard B., Hubert  
369 P., Ziemons E.: J. Pharm. Biomed. Anal. 113, 21 (2015).
- 370 34. Furuyama N., Hasegawa S., Hamaura T., Yada S., Nakagami H., Yonemochi E., Terada K.: J.  
371 Pharm. Sci. 361, 12 (2008).
- 372 35. Nakamoto K., Urasaki T., Hondo S., Murahashi N., Yonemochi E., Terada K.: J. Pharm.  
373 Biomed. Anal. 75, 105 (2012).
- 374 36. Nagy Z.K., Balogh A., Vajna B., Farkas A., Patyi G., Kramarics Á., Marosi G.: J. Pharm. Sci.  
375 101, 322 (2012).
- 376 37. Kestur U.S., Wanapun D., Toth S.J., Wegiel L.A., Simpson G.J., Taylor L.S.: J. Pharm. Sci.  
377 101, 4201 (2012.).
- 378 38. Tres F.: Molecular Pharmaceutics. 12, 1512 (2015).
- 379 39. Tres F., Patient J.D., Williams P.M., Treacher K., Booth J., Hughes L.P., Wren S.A., Aylott  
380 J.W., Burley J.C.: J. Control. Release. 188, 53 (2014).
- 381 40. Windbergs M., Haaser M., McGoverin C.M., Gordon K.C., Kleinebudde P., Strachan C.J.: J.  
382 Pharm. Sci. 99, 1464 (2010).

383 41. Padilla A.M., Ivanisevic I., Yang Y., Engers D., Bogner R.H., Pikal M.J.: J. Pharm. Sci. 100,  
384 206 (2011).  
385 42. Ueda H., Ida Y., Kadota K., Tozuka K.: Int. J. Pharm. 462, 115 (2014).  
386 43. Padilla A.M., Chou S.G., Luthra S., Pikal M.J.: J. Pharm. Sci. 100, 1362 (2011).  
387 44. Wegiel L.A., Mauer L.J., Edgar K.J., Taylor L.S.: J. Pharm. Sci. 12, 171 (2013).  
388 45. Liu H., Mauer L.J., Edgar K.J., Taylor L.S.: J. Pharm. Sci. 101, 2204 (2012).  
389 46. McGoverin C.M., Rades T., Gordon K.C.: J. Pharm. Sci. 97.11, 4598 (2008).  
390

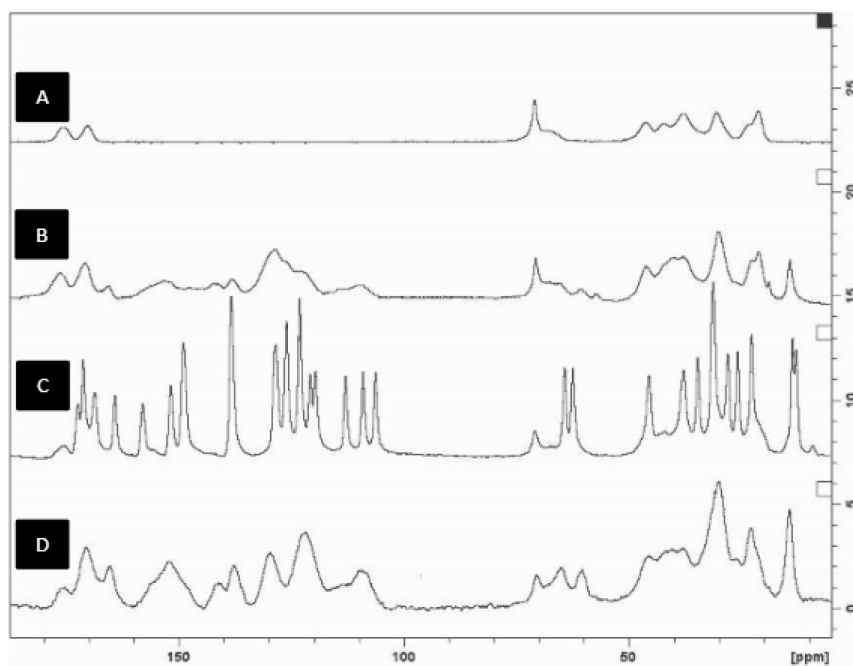
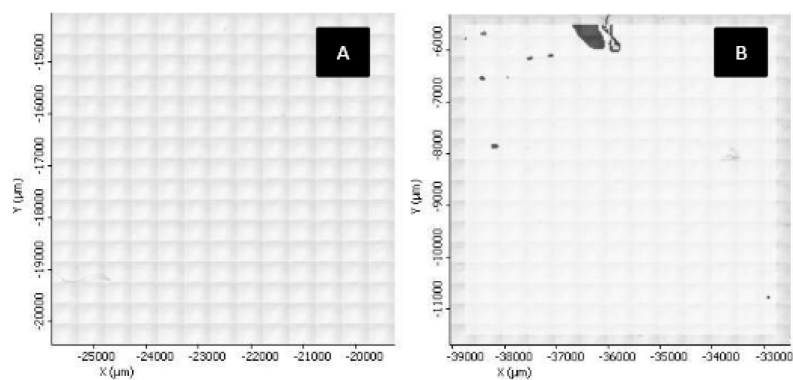


Figure 1

<sup>13</sup>C ssNMR spectra of pure Soluplus (A), sample containing Soluplus and 50% of the API prepared by solvent evaporation (B), sample containing Soluplus and 75% of the API prepared by solvent evaporation (C) and sample containing soluplus and 75% of the API prepared by spray drying (D)

398



399

400

Figure 2

401

402

403

404

405

Infrared maps of cast film samples containing Soluplus and 50% of the drug (A) and 75% of the drug (B). In map B, particles of the drug were observed. Thus, sample B was not evaluated as a solid solution.

406 **Table 1**  
 407 **Compositions of the tested samples. DSC results for samples prepared by solvent**  
 408 **evaporation and by spray drying.**

	Dabigatran etexilate % (w/w)	solvent evaporation °C	spray drying °C
Kollidon VA64	10	Tg=72	Tg=101
	25	Tg=76	Tg=92
	50	Tg=71	Tg=75
	75	Crystalline	Tg=63
Povidone K30	10	Tg=143	Tg=149
	25	Tg=127	Tg=132
	50	Tg1=46; Tg2=145	Tg=105
	75	Crystalline	Tg=66
Soluplus	10	Tg=66	Tg=63
	25	Tg=65	Tg=61
	50	Tg=62	Tg=59
	75	Crystalline	Tg=51

409

410

411 [Table 2](#)

412 **Compositions of the samples tested. Results of Raman/IR imaging for cast films.**

	Dabigatran etexilate % (w/w)	film casting	
		Raman mapping	IR mapping
Kollidon VA64	10	no particles	no particles
	25	no particles	no particles
	50	no particles	no particles
	75	Particles identified	Particles identified
Povidone K30	10	no particles	no particles
	25	no particles	no particles
	50	no particles	no particles
	75	no particles	no particles
Soluplus	10	no particles	no particles
	25	no particles	no particles
	50	no particles	no particles
	75	Particles identified	Particles identified

413

414

415 **Table 3**  
 416 The pros and cons of the approaches used in the experiment.

conventional analytical techniques DSC/NMR	
<b>vibrational imaging of cast films</b>	DSC provides a direct relative comparison of solid dispersion stability on the basis of their T <sub>g</sub> values.
Potentially a direct identification of drug-polymer interaction is possible.	NMR - provides overall information related to the composition
Possible use for multi-component solid dispersions.	
+ Possibility for analysing the spatial distribution	
Non-destructive method	
Time-consuming film preparation.	Measurement only performed on a small fraction of the sample.
High error rate in sample quality (homogeneity).	Undefined changes (leading to crystallization) within the samples may be of concern while sample is prepared (e.g. grinding in mortar).
- Only a limited cut-out area is analysed (representativeness).	Solid dispersions and solid solutions cannot always be distinguished on the basis of ssNMR spectra (depending on the particular material, amount, etc.).
Limited spatial resolution	Spectra of the amorphous form of the drug do not correspond to the spectra of the drug when incorporated into a polymer carrier.

417

## PŘÍLOHA 2

**Beneš M.,** Pekárek T., Beránek J., Havlíček J., Krejčík L., Šimek M., Tkadlecová M., Doležal P.: Methods for the preparation of amorphous solid dispersions - a comparative study. Journal of drug delivery science and technology, 38 (2017) 125 - 134. [IF 2015/2016: 0.77]; doi: 10.1016/j.jddst.2017.02.005

K přípravě pevných disperzí se běžně používá mnoho různých metod, založených nejčastěji na jednom ze dvou základních principů: odpařování rozpouštědla a tavení. [7; 9] Pevné disperze vykazují v závislosti na zvoleném výrobním postupu specifické vlastnosti, které mohou výrazně ovlivňovat jejich chování v podmínkách *in-vitro* a následně *in-vivo* a určují také možnosti dalšího technologického zpracování těchto materiálů.

Mnoho odborných prací popisuje fyzikálně-chemické vlastnosti pevných disperzí připravených různým způsobem. Jejich hlavní zaměření obvykle spočívá v popisu vlivu jednotlivých atributů pevných disperzí (např. velikost částic, typ polymeru, poměr API:polymer atd.) v souvislosti s disolučním chováním těchto materiálů [2; 92], avšak většinou se nezaměřují na souvislosti s metodami použitými pro přípravu materiálu a na porovnání materiálů se stejným složením získaných různým způsobem.

Předmětem zkoumání článku v příloze 2 jsou fyzikálně-chemické vlastnosti pevných disperzí stejného složení (febuxostat:Soluplus), připravených deseti různými metodami, založených na obou hlavních principech přípravy. Získané materiály byly podrobeny charakterizaci analytickými metodami, které se v této oblasti běžně používají: ssNMR, IR a Ramanova spektrometrie, mDSC, BET (analýza specifického povrchu), SEM, a disoluce. Jednotlivé charakteristiky byly následně vyhodnoceny pomocí nástrojů pro multivariační analýzu dat (PCA, PLS).

Bylo zjištěno, že metoda použitá pro přípravu pevné disperze má dále velmi podstatný vliv na disoluční chování pevné disperze. Nezáleží přitom pouze na principu (tavení vs. odpařování), na kterém je konkrétní metoda založena, ale i na konkrétních parametrech zvolené metody (např. rychlost odpařování). Vedle chemických interakcí mezi komponentami směsi pozorovaných pomocí IR a Ramanovy spektrometrie, je dalším z nejvýznamnějších parametrů materiálu, ovlivňující disoluční chování, specifický povrch.





Contents lists available at ScienceDirect

## Journal of Drug Delivery Science and Technology

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/jddst](http://www.elsevier.com/locate/jddst)

## Methods for the preparation of amorphous solid dispersions – A comparative study



Michal Beneš<sup>a,\*</sup>, Tomáš Pekárek<sup>b,\*\*</sup>, Josef Beránek<sup>b</sup>, Jaroslav Havlíček<sup>b</sup>, Lukáš Krejčík<sup>b</sup>,  
Michal Šimek<sup>b</sup>, Marcela Tkadlecová<sup>b</sup>, Pavel Doležal<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Charles University, Faculty of Pharmacy, Heyrovského 1203, Hradec Králové 500 05, Czechia

<sup>b</sup> Zentiva, a.s., U Kabeleřů 130, Dolní Měcholupy-Prague 10, 102 37, Czechia

## ARTICLE INFO

## Article history:

Received 17 October 2016

Received in revised form

13 February 2017

Accepted 13 February 2017

Available online 17 February 2017

## Keywords:

Solid dispersion

Solid solution

Hot-melt extrusion

Spray drying

Methods of preparation

In-vitro performance

## ABSTRACT

Solid dispersion is considered one of the most successful strategies for improving the dissolution and absorption of poorly water-soluble APIs. The primary focus of this study was to investigate the effects of methods of solid dispersion preparation on the pharmaceutically important physicochemical properties of a product based on Soluplus<sup>®</sup> as the polymer carrier and febuxostat as the model BCS II API. The methods of preparation evaluated were based on melt and solvent mechanisms. The samples prepared were evaluated by modulated differential scanning calorimetry, solid state NMR, Raman spectroscopy, XRPD, scanning electron microscopy, and BET analysis. Differences among the solid dispersions obtained by the specific methods and their mechanisms were clearly observed in *in-vitro* testing. The dissolution behaviour was shown to be influenced not only by particle characteristics such as the size and specific surface area, but also by the interactions between the API and the polymer matrix on the molecular level (e.g. non-covalent interactions). The set of measurements showed that similar methods of preparation do not lead to solid dispersion systems of similar characteristics. Surprisingly, similar dissolution profiles were found in samples prepared by very different methods although their physical-chemical characteristics differed significantly, and vice versa.

© 2017 Elsevier B.V. All rights reserved.

## 1. Introduction

Dispersions of poorly water-soluble APIs in solid inert hydrophilic polymer matrices, known as solid dispersions, have been established as an efficient approach enhancing the dissolution rate and hence the oral bioavailability of APIs being formulated this way [1–6]. The enhanced dissolution rate characteristic of solid dispersions can generally be attributed to one of the following mechanisms: eutectic formation, increased surface area of the drug due to precipitation in the carrier, solid solution formation and improved wettability due to intimate contact with a hydrophilic

carrier, precipitation as a metastable crystalline form, or a decrease in substance crystallinity. Both the properties of the carrier-API composition and the method of production generally can influence the type of the solid dispersion formed, and thus the subsequent behaviour of the solid dispersion [7].

Further aspects of solid dispersions such as classification, methods of production including many details as well as choice of additives, mutual miscibility, mechanisms of API release, and methods of characterization have been studied extensively and presented in review articles [5,8,9].

Despite the intense study of solid dispersions, only a limited

Abbreviations: ASD, Amorphous Solid Dispersion; API, Active Pharmaceutical Ingredient; mDSC, modulated Differential Scanning Calorimetry; SSA, Specific Surface Area; ssNMR, solid state Nuclear Magnetic Resonance; T<sub>m</sub>, Melting temperature; T<sub>g</sub>, Glass transition temperature; HME, Hot-Melt Extrusion; SC, Slow Cooling; BC, Bench Cooling; FC, Fast Cooling; SD, Spray Drying; SE, Solvent Evaporation; RVE, Rotary Vacuum Evaporation; IR, Infrared; RS, Raman Spectroscopy; SEM, Scanning Electron Microscopy; BET, Brunauer Emmett and Teller; PSD, Particle Size Distribution; XRPD, X-Ray Powder Diffraction; PC, Principal Component; PCA, Principal Component Analysis; PLS, Partial Least Squares regression; (Soluplus<sup>®</sup>), polyvinyl-caprolactam-polyvinyl acetate-polyethylene glycol graft copolymer.

\* Corresponding author.

\*\* Corresponding author.

E-mail addresses: [Michal.benes84@gmail.com](mailto:Michal.benes84@gmail.com) (M. Beneš), [Tomas.Pekarek@zentiva.cz](mailto:Tomas.Pekarek@zentiva.cz) (T. Pekárek), [Josef.Berane@zentiva.cz](mailto:Josef.Berane@zentiva.cz) (J. Beránek), [Jaroslav.Havlicek@zentiva.cz](mailto:Jaroslav.Havlicek@zentiva.cz) (J. Havlíček), [Lukas.Krejci@zentiva.cz](mailto:Lukas.Krejci@zentiva.cz) (L. Krejčík), [Michal.Simek@zentiva.cz](mailto:Michal.Simek@zentiva.cz) (M. Šimek), [Marcela.Tkadlecova@zentiva.cz](mailto:Marcela.Tkadlecova@zentiva.cz) (M. Tkadlecová), [Dolezal@faf.cuni.cz](mailto:Dolezal@faf.cuni.cz) (P. Doležal).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jddst.2017.02.005>

1773-2247/© 2017 Elsevier B.V. All rights reserved.

number of products are available on the market. The poor predictability of the physical stability of solid dispersions together with the difficult production at the industrial scale were identified as the main reasons [1,3].

Solid dispersions are commonly prepared by the solvent or hot-melt (fusion) methods [4,6]. In solvent-free methods, the crystal lattice structure is destroyed by high temperatures and by mechanical stress. However, imperfect amorphization, that is, the presence of remaining nuclei or small crystals, may lead to crystallization after preparation. On the other hand, in the solvent methods, the lattice structure is destroyed completely during the preparation process, but crystallization may be enhanced by the presence of residual solvents [10].

A very efficient solvent evaporation-based technology is spray drying (SD), since it allows for extremely rapid solvent evaporation, leading to a fast transformation of the API to the crystallized and/or amorphized form dispersed within solid carrier particles. An excellent review on all aspects of SD was published recently [11].

Frequently, the method of choice for manufacturing solid dispersions is hot-melt extrusion (HME), mainly because of the health, environmental, and subsequent financial issues associated with the lack of the use of solvents [12,13].

Further ways of preparation have been described, such as thermal adhesion granulation [12], ball milling [14], electrospinning [15], co-precipitation [16], supercritical fluid methods, spray freezing [2], etc. Solid dispersions prepared by different methods can exhibit differences in physicochemical properties, which might affect product performance, including manufacturability [17]. The dissolution behaviour of amorphous solid dispersions (ASDs) is known to be affected by many variables, such as the type of polymer, API-polymer ratio and interactions, aqueous solubility of components, wettability, and physical stability of the solid dispersion [1,18]. The degree of molecular interactions was proven to be dependent on the actual-API-polymer miscibility [19].

Significantly lower aqueous solubility of solid dispersions prepared by SD compared to the bead milling method was reported despite the smaller particle size of the SD material. The differences were attributed to higher surface energy which results in the aggregation of particles of the SD solid dispersions, which in turn negatively affects aqueous solubility [20]. It has also been reported that the surface of a SD powder is dominated by less soluble material due to its adsorption into the air/liquid interface before they turn into dry particles [1].

Also, Joe and co-authors reported the solubility of solid dispersions to be dependent on the method used for their preparation, in the following order: solvent-evaporation method > solvent-wetting method > surface-attached method [6]. The authors have attributed the significant differences in the solubility of the samples to the size of particles, the contact area between the hydrophilic carrier and the API contained, and to the crystallinity of the API. Different particle morphologies, crystallinities, and dissolution rates were assigned to different mechanisms of particle formation by spray freezing and supercritical antisolvent precipitation methods in the comparison study [2,21]. The supercritical antisolvent precipitation method showed higher crystallinities of samples, which resulted in lower dissolution rates. A direct comparison of the solid state characteristics of solid dispersions prepared by the HME and solvent co-precipitation methods is presented in a study by Dong [16]. The authors reported the same spectroscopic, XRPD, true density and water sorption/desorption behaviour, but a larger specific surface area of co-precipitated ASD, which resulted in its faster dissolution. Other similar works presented characteristics of HM-extruded and SD solid dispersions varying in surface area, powder densities and flow characteristics, whereas in terms of the interactions between the drug and the

carrier, the dispersions prepared by both methods are rather similar. The work concludes by suggesting that similar product performance can be obtained when the physical characteristics of materials are similar. However, differences in material properties may affect the physical stability of the solid dispersion, since the SD solid dispersion was shown to be physically less stable compared to the HME solid dispersion under accelerated stability conditions [22,23].

The aim to investigate the influence of the manufacturing process used in the preparation of glass solutions on the physicochemical characteristics of products has been described in another paper [14]. The study indicated that the preparation method is of importance in terms of chemical stability and processing, but that the choice of the manufacturing approach appears to have minimal influence on physical stability.

The primary focus of this study is to investigate the effects of the solid dispersion method on the physicochemical properties of the product. The same API-polymer primary mixture was used in the preparation of the solid dispersions in order, to eliminate any possible variation in the properties of the solids due to their chemical composition. Therefore, the differences in the properties of solid dispersions can be attributed to the molecular interactions and physicochemical properties induced by the preparation method used.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Preparation of solid dispersions

Soluplus® (BASF, Ludwigshafen, Germany) was used as the hydrophilic carrier for the preparation of solid dispersions by the various methods described below. Febuxostat (Zentiva, k.s., Prague, Czech Republic) was used for the experiments as the model BCS II API and it was in pharmaceutical quality. The mixture (API-polymer ratio 1:2 w/w) was mixed for 15 min in a small container in a Turbula T50A blender and used for all the experiments. This mixture was also used as a physical mixture sample. For solvent methods, a mixture of febuxostat:Soluplus:ethanol (1:2:18, w/w) was prepared and then used in each case. The ethanol used in the study was 96% in Ph. Eur. quality. Water for injection (Ph.Eur.) was used in the sample preparation. All material gained using the procedures described below was ground in a grinding mortar, sieved manually using a 250 µm sieve, and kept in closed glass bottles.

#### 2.1.1. Hot-melt extrusion (HME)

The Three-Tec ZE12 twin-screw mini extruder was used for the preparation of the sample. The material was conveyed into the extruder gravimetrically, using the Three-Tec ZD 9 FB-C-1M – 80 twin screw feeder. The following settings were used for production of the solid dispersion used for testing in this study: feeding rate 300 g/h, 100 rpm of the screws; 1.5 mm nozzle diameter; temperature set in five separate zones 100/135/135/135/135 °C.

#### 2.1.2. Fusion method, subsequent cooling (fusion, SC)

Approximately 5 g of the drug-polymer mixture (1:2) was placed between two aluminium plates and put on the heater annealed to 180 °C. Aluminium plates were pressed together and shuffled rotationally in order to produce shear stress. This procedure took 10 min. Subsequent cooling was performed by putting the aluminium plates with the material between them in a tray dryer, which was set to cool down from 180 °C at the rate of 30 °C per hour until 30 °C was achieved.

### 2.1.3. Fusion method, bench cooling (fusion, BC)

Another sample was prepared in the same manner as described in paragraph 2.1.2. Bench cooling was performed at ambient temperature on the laboratory bench.

### 2.1.4. Fusion method, fast cooling (fusion, FC)

Another sample was prepared in the same manner as described in paragraph 2.1.2. Fast cooling was performed using a liquid nitrogen bath into which the aluminium plates with the material between them were immersed.

### 2.1.5. Melt-extrudates exposed to vapours of 3% ethanol (HME+3% EtOH)

A funnel was inserted tightly into a flask containing an ethanol:water solution (100 g of 3% (w/w) ethanol), using a hole in the cork. A fine mesh was placed on top of the funnel, onto which the melt-extrudate was spread in a thin layer (approx. 3 mm). The whole apparatus was put onto a hot plate (set temperature 150 °C) for 30 min. Finally, the material was removed from the mesh, ground in a grinding mortar and sieved through a 250 µm sieve. The material was put into the ventilated hood and left for 3 days at approx. 25 °C in order to remove possible residual solvents.

### 2.1.6. Melt-extrudates exposed to vapours of 15% ethanol (HME+15% EtOH)

The same procedure as that described in paragraph 2.1.5 was used, except that a 15% w/w ethanol:water solution was used instead of the 3% one.

### 2.1.7. Melt-extrudates exposed to vapours of 70% ethanol (HME+70% EtOH)

The same procedure as that described in paragraph 2.1.5 was used, except that a 70% w/w ethanol:water solution was used instead of the 3% one.

### 2.1.8. Spray drying (SD)

The solutions described in paragraph 2.1 were used for SD in a Büchi Mini spray dryer B-290, with the following settings: aspirator 80%; pump 20 min<sup>-1</sup>, process nitrogen temperature 90 °C, temperature of the inert loop –15 °C.

### 2.1.9. Solvent evaporation method (SE)

Approximately 50 g of the solution described in paragraph 2.1 was introduced into a beaker and left on the laboratory bench at ambient (approx. 25 °C) conditions until the solvent evaporated completely (approximately 2 weeks).

### 2.1.10. Solvent evaporation at elevated temperature (SE at 50 °C)

The procedure described in paragraph 2.1.9 was used. The beaker with the solution, however, was put in a tray dryer heated to 50 °C. It took approximately 1 week to achieve a complete removal of the solvent using this process.

### 2.1.11. Rotary vacuum evaporation (RVE)

Approximately 50 g of the solution described in paragraph 2.1 was introduced into a beaker, stirred and heated gently until a clear solution was obtained. The solvent was evaporated using a RVE at 45 °C, 20 mbar. Then, the material was dried for 4 h at 40 °C in a tray dryer.

## 2.2. Analytical methods used for characterization of solid dispersions

### 2.2.1. Solid-state nuclear magnetic resonance (ssNMR)

<sup>13</sup>C CP-MAS ss NMR spectra were measured on a Bruker 400 WB

spectrometer (Bruker Biospin, GmbH, Germany) in 4 mm rotors with a spinning frequency of 13 kHz.

### 2.2.2. Infrared spectrometry (IR)

ATR (ZnSe)-IR spectra were acquired by an FTIR spectrometer Nicolet Nexus (Thermo, USA) with an accumulation of 12 scans with 4 cm<sup>-1</sup> spectral resolution.

### 2.2.3. Raman spectrometry (RS)

FT-Raman spectra were acquired by a FT-Raman spectrometer RF5 100/S (Bruker, Germany) with an accumulation of 64 scans with 4 cm<sup>-1</sup> spectral resolution.

### 2.2.4. Modulated differential scanning calorimetry (mDSC)

Modulated DSC measurements were performed on a TA Instruments, Discovery DSC. The samples were weighed in aluminium pans with covers (40 µL) and measured in a nitrogen flow. Investigations were performed at a temperature range from 0 °C to 200 °C with a heating rate of 5 °C/min (amplitude = 0.8 °C and period = 60 s). The temperatures specified in relation to mDSC analyses are the temperatures of the peak maxima (Tpeak) and the onset temperature (Tonset) of peaks for the crystalline form and the glass transition temperature (Tg) for the amorphous form. The enthalpy is given in J/g. Sample weight was approximately 3–5 mg.

### 2.2.5. Specific surface area

Specific surface area was measured on the Nova 2000e instrument (Quantachrome, USA). Desorption took place for 2 h at 40 °C under vacuum. Sorption of nitrogen was carried out in the liquid nitrogen temperature with a 13-point BET (Brunauer, Emmett and Teller) calculation.

### 2.2.6. Scanning electron microscopy (SEM)

The morphologies were studied using a scanning electron microscopy (SEM) Mira/Tescan II LM (Tescan a.s., Czech Republic). A small amount of each sample was fixed on an aluminium stub using a double-sided conductive adhesive carbon tape and sputtered with platinum for 240 s at 15 mA (Sputter SC7640; Quorum Technologies Ltd, Ashford, UK). The evaluations of the sample particle size distribution were performed with image analysis software (NIS Elements 4.11, LIM – Laboratory imaging spol. s.r.o., Czech Republic). To assess the number-weighted particle size distributions, approximately 600 particles were evaluated in every analysis, which was found to be sufficient in order to achieve Gaussian distribution for all materials in the investigation. Particle size distribution is often reported as a parameter based on the maximum particle size for the given percentage (10%, 50% and 90%) of the sample. For this reason, PSDs were compared by percentile *d*-values, which are known as the lower decile *d*(0.1), median *d*(0.5), and upper decile *d*(0.9).

### 2.2.7. In-vitro drug release

The dissolution rate was determined using a Sotax AT-7 dissolution apparatus (Sotax AG, Aesch, Switzerland) with the thermostat set at 37 °C, and equipped with low volume vessels and mini-paddles. Experiments were performed using 150 mL of a 50 mM acetate buffer at pH 4.5. The agitation rate was kept constant at 125 rpm throughout the experiment. The concentration of the dissolved drug was measured on-line, upon filtration through 0.7 µm glass microfiber filter (Whatman, GE Healthcare Life Sciences, Buckinghamshire, United Kingdom), using a UV/Vis spectrophotometer Lambda 25 (Perkin Elmer, Waltham, MA, USA) at 263 nm. The level of absorbance was checked at 600 nm in order to display a potential passage of particles through the filter.

Uncompressed powder was accurately weight and introduced



into a dissolution vessel. The amount introduced corresponded to approximately 10 mg of the active substance in all experiments.

### 3. Results

#### 3.1. Solid-state nuclear magnetic resonance (ssNMR)

Solid state NMR spectra were taken from all the solid dispersions prepared in the study. Besides that, the pure crystalline and pure amorphous drug and also physical mixtures thereof with the polymer at the same ratio as in the solid dispersion samples were measured. Selected NMR spectra are presented in Fig. 1. Clearly, only two solid dispersion samples contained a crystalline form of the drug, which were the two prepared by the solvent evaporation (SE) method at ambient (25 °C) and elevated (SE at 50 °C) temperatures. The spectra of these samples corresponded to the spectra of the physical mixture of the crystalline drug with the polymer. The spectra of amorphous solid dispersion samples were similar (but not identical) to the spectra of the physical mixture of the amorphous drug with the polymer. Thus, ssNMR can be used for the identification of amorphous solid dispersions within the set of samples prepared in the study. However, distinguishing single-phase amorphous solid dispersion and two-phase dispersion of amorphous drug in the polymer matrix requires a combination with another analytical technique.

#### 3.2. Infrared spectrometry and raman spectrometry

Infrared (IR) spectra and FT-Raman spectra (RS) were taken from all the solid dispersions prepared in the study. Besides that, the pure crystalline and pure amorphous drug and also physical mixtures thereof with the polymer at the same ratio as in solid dispersion samples were measured and evaluated, using principal component analysis (PCA, see below). Interaction between the API and the polymer was observed in each of these samples. The API's carbonyl group was probably dissociated according to the IR and Raman spectra.

A PCA analysis of IR spectra (800–1600  $\text{cm}^{-1}$ ) was performed. The results are presented in Fig. 2. The sample prepared by SE at 50 °C is separated from other samples, i.e. this spectrum is the most

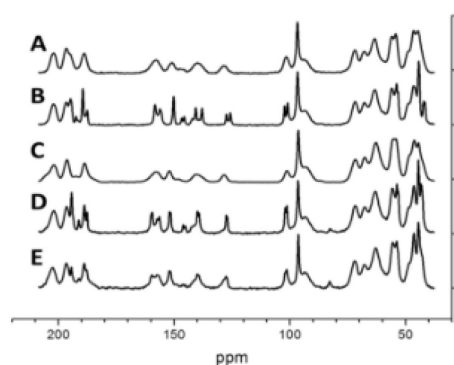


Fig. 1. Spectra from Nuclear Magnetic Resonance; A – physical mixture of amorphous febunostat and Soluplus; B – physical mixture of crystalline febunostat and Soluplus; C – amorphous solid dispersion prepared by spray drying; D – crystalline solid dispersion prepared by SE; E – crystalline solid dispersion prepared by SE at 50 °C.

different one from all the measured spectra along with PC1, which carries 94% of the explained variance. The spectra of samples prepared by all other methods are similar according to the PC1. Nevertheless, slight clustering in the PCA scores graph (Fig. 2) is visible in the case of fusion- SC, FC and HME + 70% EtOH (one cluster). Furthermore, clustering along both PCs is found in samples of the physical mixture with an amorphous API (phys-mix amorph), solvent evap. at 25 °C (one cluster), HME+3% EtOH, HM extrusion and RVE, Fusion, BC (another one). There are different spectra of samples prepared by SD and phys-mix crystal along PC2. It can be assumed that PC2 is assigned to the crystallinity of the sample (the lower the value of PC2, the higher the crystallinity), whereas PC1 is connected with API:polymer interaction. According to the loadings graph for the first component (Fig. 3), the most significant differences in the spectra of individual samples occur in the fingerprint region. There are also bands, whose intensity is attributed to the crystallinity of the samples (bands at approx. 1010, 1110 and 1270  $\text{cm}^{-1}$ ). This can be seen in the comparison of the sample spectra shown in Fig. 4. Bands specific for the intensity of the mutual interaction between the API and the polymer are rather less evident (e.g., the band at 1240  $\text{cm}^{-1}$ ).

In parallel, a PCA analysis of the Raman spectra was performed. The results are presented in Fig. 5. Similar to the IR spectra, the spectra corresponding to samples prepared by SE at elevated temperature were located in the region of the physical mixtures spectra in the scores graph. Interestingly, the spectra of the sample prepared by SE at 50 °C were very close to the spectra of the physical mixture of the drug in amorphous form with the polymer which may be due to the presence of interactions between the polymer and the API. Carbonyl groups and the level of interactions can be better identified in IR spectra, which is likely the reason why the sample prepared by SE at 50 °C is isolated from the remaining samples in the PCA analysis of IR spectra. Graph loadings (Fig. 6) show the contribution of the spectral interval to the differentiation of Raman spectra along the first component. For instance, bands at 1430 and 1450  $\text{cm}^{-1}$  were identified as the regions with the highest contribution to the spectral differentiation along the 1st component. A different intensity band can be observed in this region in each Raman spectrum shown in Fig. 7, which could be attributed to the different level of interaction between the components of the samples.

#### 3.3. Modulated differential scanning calorimetry (mDSC)

In the samples prepared by SE and SE at 50 °C, a crystalline fraction was identified in a thermogram being characterized by the melting point ( $T_m$ ). Thus, those two samples have the character of a 2-phase crystalline solid dispersion. A single glass transition temperature ( $T_g$ ) was observed in all of the remaining solid dispersion samples, which is a clear characteristic of solid solutions (single-phase amorphous solid dispersions). For the results, see Table 1.

#### 3.4. Specific surface area (SSA)

The SSA was measured in all the solid dispersions prepared in the study and the data are summarized in Table 1. The largest specific surface was identified in the samples prepared by SD and in the samples where the HME material was exposed to the vapours of a 3% and 70% ethanol solution in water. The smallest specific area was observed in the sample prepared by SE at 50 °C. Overall, the results are in the range from 0.4 to 2.1  $\text{g/m}^2$ .

#### 3.5. Scanning electron microscopy (SEM)

Several micrographs of each sample were taken and

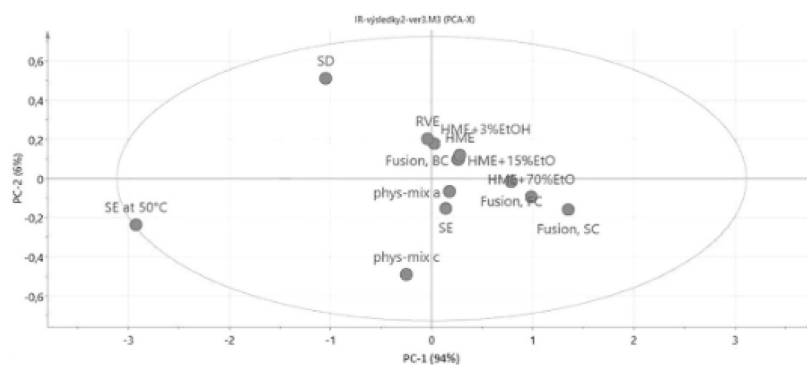
Fig. 2. PCA analysis of the IR spectra in the region of 800–1600 cm<sup>-1</sup>.

Fig. 3. Loadings graph for the first component from the IR spectra of the samples.

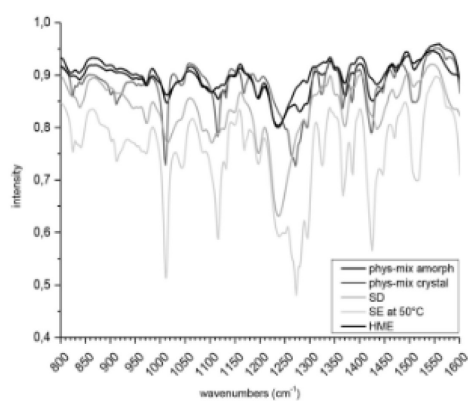


Fig. 4. IR spectra of selected samples.

investigated for the particles size and morphology (for the results, see Fig. 8). The most deviating particle size was observed in the solid dispersion prepared by SD, which contained the smallest particles prepared in the study. On the contrary, the largest particles were identified in solid dispersion samples prepared by RVE. The particles in the remaining individual samples were very similar in magnitude.

An image analysis of the micrographs obtained showed that the solid dispersion prepared by SD had the smallest particles in the study. They were nearly perfectly spherical and were better visible at larger magnification (see Fig. 9 A). Fine and regular rod-shaped particles were observed on the surface of the material prepared by SE at 50 °C (see Fig. 9 B). Crystal-like particles were observed on the surface of the material prepared by SE (see Fig. 9). Particles of all the remaining samples were of irregular shape.

### 3.6. In-vitro drug release

The dissolution rates of pure crystalline and amorphous APIs, physical mixtures thereof and of all the solid dispersion samples were measured. Summary results can be found in Fig. 12. No

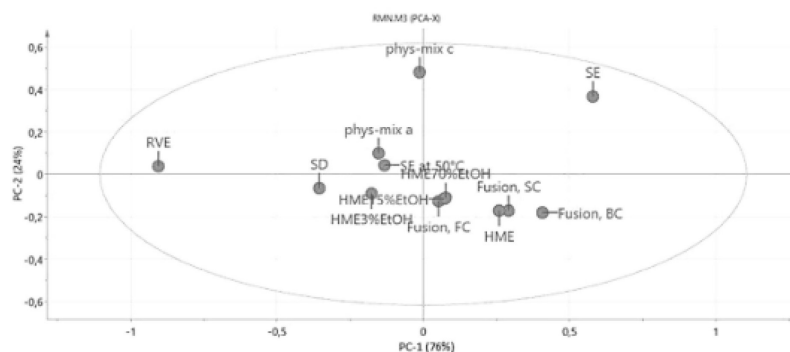


Fig. 5. PCA analysis from the region of 800–1600  $\text{cm}^{-1}$  of the Raman spectra.

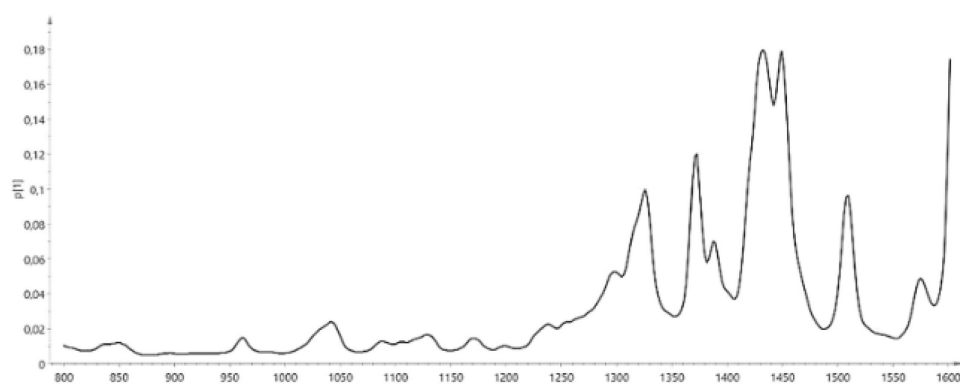


Fig. 6. Loadings graph for the first component from the Raman spectra of the samples.

wettability issues were observed during the measurements. No subsidiary noise was observed at the spectrum baseline which was considered a sign of the absence of particles passing through the filter. The dissolution method was set intentionally such as to not achieve sink conditions in order to determine effectively the dissolution rate and the kinetic solubility of the API from different materials. Equilibrium solubility was defined in foregoing research which is 0.0044 ng/mL in pH 4.5. This value corresponds to approximately 7% of the API dissolved in the dissolution apparatus. Apparently, 3–4 fold super-saturation was achieved in the fastest materials (approx. 25% of the API dissolved) which were prepared by HME and SD. This effect is predominantly attributed to the method used for the preparation of the material since the same polymer was used for all samples. The slowest dissolution rate was shown by the sample prepared by SE. Interestingly, the dissolution rate of the sample prepared by SE at 50 °C, which contained crystalline particles, was comparable with the dissolution rate of the sample prepared by RVE, which was homogeneously amorphous.

Physical mixtures containing both amorphous and crystalline API were faster in dissolution than the pure APIs, which shows a certain solubilisation effect of the polymer.

### 3.7. General observations

The present study explored the effect of the method used for the preparation of a solid dispersion on the physicochemical profile of the sample and the sample's in vitro performance. Ten different methods were included in the investigation. All methods used for the preparation of the solid dispersion introduced to the sample a specific set of physical characteristics (see summary in Table 1) and influenced the chemical arrangements of the components of which the solid dispersion consisted. Similarities of the sample observations and their importance and relations to different material characteristics investigated can be seen in the PCA and PLS biplots (Figs. 10 and 11). The PCA and PLS (partial least squares regression) analysis is based on data contained in Table 1. The dissolution rate

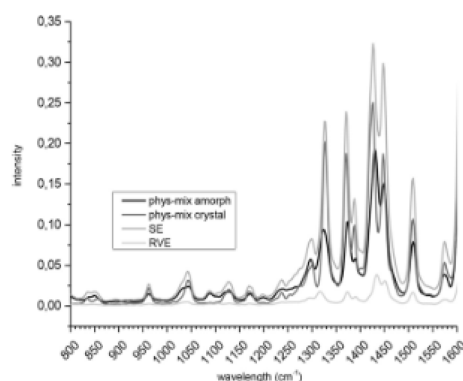


Fig. 7. Raman spectra of selected samples.

seems to be the most related to the surface area and particle size. However, other characteristics representing the crystallinity of the material and the extent of interaction between the two components (e.g., T<sub>g</sub>, Infrared and Raman spectra) of the samples are also significant, although to a lower extent than SSA and PSD. Single band characteristics were used in the PCA and PLS analyses for IR spectra (1272 cm<sup>-1</sup>) and Raman spectra (1432 cm<sup>-1</sup>) as these were identified to have the highest contribution to the differences between individual samples.

In two cases (SE and SE at 50 °C) crystalline solid dispersions were prepared, while all the remaining samples were solid solutions. Among the methods whereby a solid solution was achieved, 3 groups of samples could be anticipated. Within the groups, similar physical (Surface area, PSD, T<sub>g</sub>) and chemical (ssNMR, IR spectra and Raman spectra) characteristics were observed, which led to similar *in vitro* performance of the samples within the groups.

Those groups were characterized first by the mechanism of

creating a solid solution (melt, solvent and exposure of melt towards vapours of the solvent), which likely resulted in similar chemical arrangements of the components of the sample, but also, second, by similar physical characteristics of the powder material. The exposure of melt extruded material to the vapours of ethanol results in an increase of the glass transition temperature and in a significant decrease of the dissolution rate. This can be interpreted such that the methods with solvent-based mechanism lead to a material with a more advantageous chemical arrangement (higher T<sub>g</sub> resulting in better stability), whereas its physical properties can be in favour of better solubility (i.e., SD with smaller particles and greatest dissolution profile) compared to the HME material.

The *in vitro* performance of the solid solution samples could then be explained on the basis of a thorough understanding of the overall set of the physical and chemical properties. It is equally important to understand both the physical and the chemical profiles of the sample, which was demonstrated on the comparison of samples prepared by SD and HME. Those samples were characterized by different chemical arrangements induced by the method used, different sets of physical properties, but similar performance *in vitro*. Interestingly, small changes in the chemical arrangement of solid dispersion samples can cause significant changes in the dissolution behaviour. On the contrary, only significant changes in the physical properties can be responsible for such changes in the dissolution behaviour.

Thus, the differences in terms of the *in vitro* performance of the samples prepared by different methods could only be explained on the basis of a thorough understanding of both the physical and chemical characteristics of the samples and no discrete analytical method is able to explain such differences. Also, physical parameters (primarily T<sub>g</sub>) can only be used for characterising the samples as long as the same method is used for their preparation. When examining samples prepared by different methods, a thorough understanding of their chemical arrangements is also required.

#### 4. Discussion

In the group of all 10 samples prepared by different methods, only two were identified as crystalline solid dispersions (i.e., SE and SE at 50 °C). The remaining samples were identified as amorphous

**Table 1**  
Results summary (A=amorphous; C=crystalline).

Sample name	Method description	ssNMR IR (1272.79 cm <sup>-1</sup> )	RS (1432.08 cm <sup>-1</sup> )	T <sub>g</sub>	T <sub>m</sub>	Surface	PSD d(10)	PSD d(50)	PSD d(90)	Dissolved in 15min	Dissolved in 30min	Dissolved in 45min	Dissolved in 60min	
				[°C]	[°C]	[m <sup>2</sup> /g]	[μm]	[μm]	[μm]	[%]	[%]	[%]	[%]	
Soluplus	—	A	—	64.7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
Febuxostat crystal	—	C	0.75056	0.55808	—	210	—	—	—	1.0	1.3	0.0	0.6	
Febuxostat amorph.	—	A	0.54328	0.52912	106	—	—	—	—	0.9	1.2	0.6	1.1	
phys. mix (crystal API)	2.1	C	0.73109	0.1353	—	—	—	—	—	7.2	11.4	11.2	11.8	
phys. mix (amorph. API)	2.1	A	0.84089	0.18959	—	—	—	—	—	11.2	25.7	27.5	28.9	
HME	2.1.1.	A	0.87537	0.28904	57	—	0.8	21	48	101	13.1	16.9	19.2	26.8
Fusion, SC	2.1.2.	A	0.94243	0.28371	51.7	—	0.8	21	49	118	11.8	16.2	19.0	21.0
Fusion, BC	2.1.3.	A	0.87676	0.3141	51	—	1	22	47	129	9.9	13.7	16.3	21.1
Fusion, FC	2.1.4.	A	0.90726	0.2356	51.3	—	0.7	27	54	152	12.7	17.1	19.6	18.8
HME+3%EtOH	2.1.5.	A	0.85925	0.1934	59	—	1.9	35	67	142	12.9	18.1	21.5	21.7
HME+15%EtO	2.1.6.	A	0.87158	0.24471	59.2	—	1.1	37	64	112	8.8	13.0	15.9	24.0
HME+70%EtOH	2.1.7.	A	0.91396	0.24467	58.9	—	2.1	71	106	229	19.1	21.8	24.4	19.0
SD	2.1.8.	A	0.78441	0.15618	63.5	—	2.1	1.1	2.1	5.9	19.1	21.8	24.4	27.6
SE	2.1.9.	C	0.81651	0.25415	44.7	116.3	1.2	23	50	136	4.1	7.1	9.0	11.7
SE at 50 °C	2.1.10.	C	0.48074	0.17812	61.2	135.2	0.4	37	119	239	6.9	11.5	15.1	18.3
RVE	2.1.11.	A	0.85206	0.03702	61.1	—	0.9	52	119	346	7.4	11.4	14.5	17.9

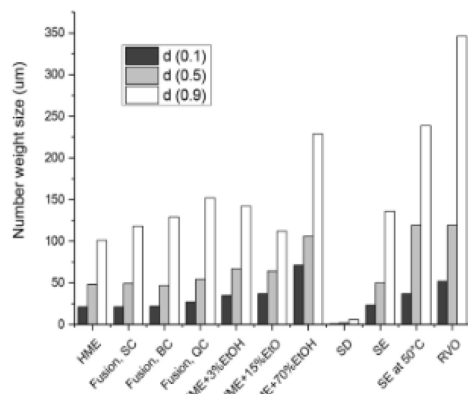


Fig. 8. Results of d-values of number-weighted PSDs of the solid dispersion used.

solid solutions. These observations were achieved with all the relevant techniques (ssNMR, IR spectrometry, RS, mDSC) in good mutual agreement.

When a solid solution and its  $T_g$  is considered, although the differences in the mDSC analyses of the samples were not substantial, the ascendant trend of  $T_g$  identified was used for dividing the samples into three or four groups corresponding to the character of the mechanism of the method used for their preparation. Thus, all samples prepared by the melt-based method (all fusions regardless of the cooling rate applied to the samples) showed a single glass transition temperature ( $T_g$ ) at about 51 °C. Similarly, the HME sample exhibited  $T_g$  at 57 °C, which is a temperature in between the group of samples prepared by exposing the extrudates to ethanol vapours and the group of samples prepared by fusion methods. Finally, the SD sample and the sample prepared by RVE (both solvent based mechanism) was characterized by a  $T_g$  of approx. 62 °C, which is the highest  $T_g$  value obtained. All samples mentioned in the previous sentence were characterized as solid solutions for having a single  $T_g$ . The two remaining samples (prepared by SE and SE at 50 °C) were characterized by the  $T_g$  and  $T_m$  (of the crystalline drug) values, which is why those two samples were evaluated as solid dispersions (the drug is not molecularly dispersed in the polymer matrix).

In terms of specific surface area, no fundamental differences

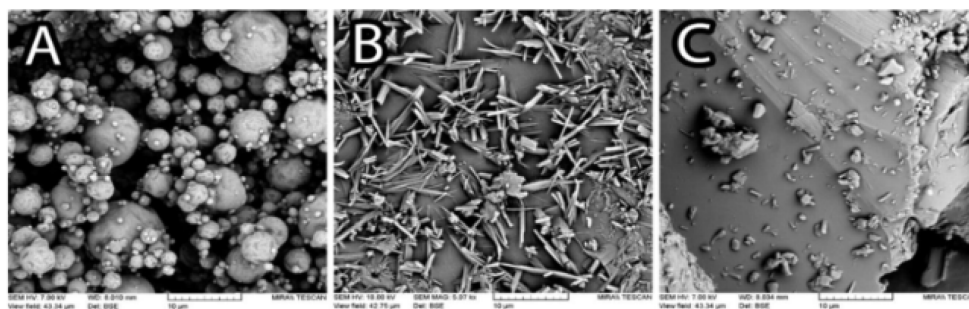


Fig. 9. Larger magnification of solid dispersion material: (A) SD; (B) SE at 50 °C; (C) SE.

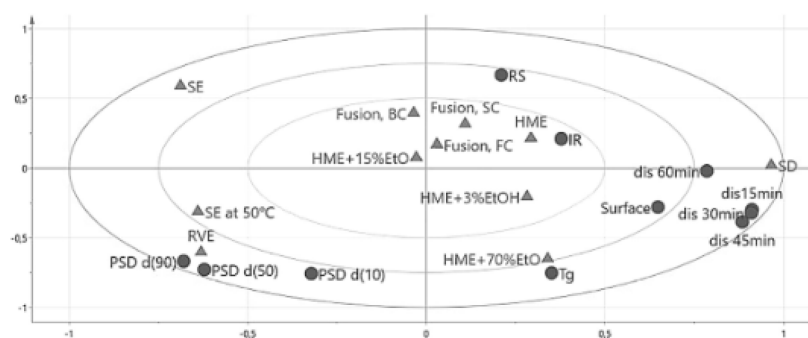


Fig. 10. Comprehensive PCA analysis biplot.



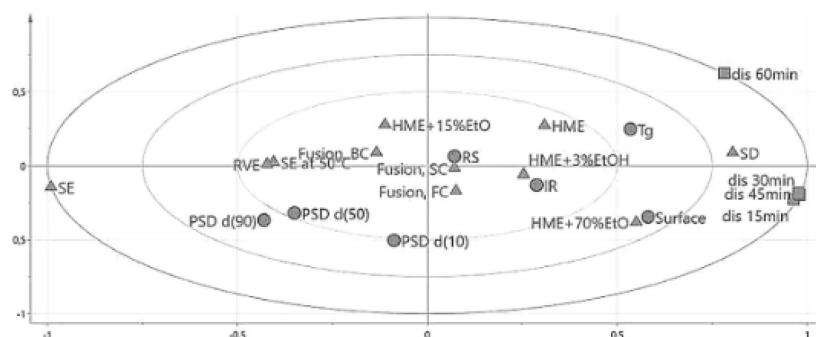


Fig. 11. Comprehensive PLS analysis biplot.

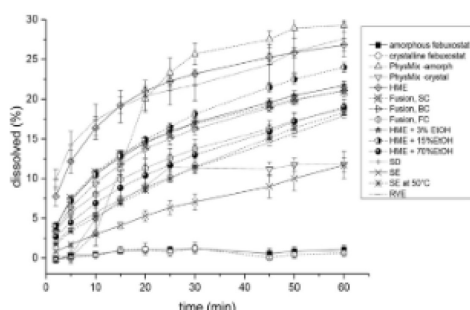


Fig. 12. Drug release profiles of the solid dispersions prepared and of the pure drug in crystalline and amorphous state.

were identified in the set of samples included in the study. This is particularly surprising especially in the case of the SD sample as it was supposed to have the largest surface area (smallest particles of all the samples). Interestingly, the methods of preparation based on the fusion principle (HME, Fusion – FC, BC, SC) yielded approximately a half of the value of the specific surface of the products of methods based on SE (extrudates exposed to vapours of Ethanol, SD).

As mentioned earlier, the lowest PSD was attributed to the sample prepared by SD, whereas the size of particles in the remaining samples was almost equal (all below 140  $\mu\text{m}$ ), with the exception of two samples (SE at 50 °C and SD). Large particles occurred more frequently in those two samples. This fact is interesting in particular in the case of the sample prepared by SE at 50 °C, which had the largest particles but the greatest specific surface area at the same time.

Another interesting observation was related to the micrographs and mDSC measurement and to the samples prepared by SE and SE at 50 °C. As mentioned earlier, both samples had the character of solid dispersions, whilst it was likely the second phase of the solid dispersion that was observed upon larger magnification on the surface of individual particles (see Fig. 9B and C). In terms of microphotographs, phase separation seemed to occur to a far greater extent in the case of the sample prepared by SE.

Phase separation observed in the samples prepared by SE and SE

at 50 °C was manifested significantly in the drug release rates. This is particularly valid for the sample prepared by SE, which was the slowest in terms of dissolution (this may correspond to the observation from the SEM – the second phase separated on the surface of bigger particles is observable to a larger extent). On the contrary, the fastest dissolution profiles were observed in the samples prepared by HME and SD. This is very interesting as there are significant differences between those two samples in terms of Tg, surface area and particle size. Also, those samples differed from each other in terms of the PCA analyses (IR and Raman spectra), which is a sign of the different chemical arrangements of those samples.

Interestingly, the PCA analyses of Raman spectra could be interpreted in the same mechanism-based groups mentioned in terms of mDSC measurements. Thus, RVE and SD are located in the same area, the group of extrudates exposed to the vapours of ethanol lay close to the area where the sample prepared by HME was located, which also corresponds to the very close values of Tg. Next to this, the samples in the group prepared by the fusion method (all cooling rates) are located close to each other.

When the PCA analysis of IR spectra is considered, RVE and SD samples were located in the same region. Clearly, samples prepared by SE and SE at 50 °C were located in the same region of the PCA analyses (both IR and RS) as the physical mixtures with crystalline API. This was also understood as a confirmation of the results from mDSC, ssNMR and SEM, and a sign of its being a solid dispersion.

Another surprising observation was related to the comparison of the samples prepared by SD and HME. Both samples were located in different regions in the PCA analysis (both IR and RS), which is a sign of a different extent of interaction between the components of the two samples. Furthermore, those samples were characterized differently in terms of their physical properties (Tg, specific surface). In spite of those findings, the SD and HME materials behaved similarly when *in-vitro* performance is considered. *In-vitro* performance is an indicator of both the physical properties of the material and of the chemical arrangement of the solid dispersion components.

## 5. Conclusions

Unlike other research papers in the field which deal with different methods of preparation and compare, rather, the physical parameters of products, this study provides clear evidence of the high importance of the chemical arrangement of solid dispersion components – the API and the polymer. Each preparation method,

regardless of the mechanism on which it is based (melt or solvent), introduces a specific set of physical and chemical characteristics to the material produced, which influences the *in-vitro* behaviour of the material. Thus, similar dissolution profiles were observed in samples prepared by HME and SD. This is very interesting as there are significant differences between those two samples in terms of Tg, surface area and particle size. Also, those samples differed from each other in terms of their IR and Raman spectra. Differences in the chemical arrangement of the samples prepared by different methods can be detected by conventional analytical techniques (IR/RS ideally in combination with PCA interpretation). However, an overall characterization which covers not only the physical but also the chemical properties of the material is required when the manufacturing technology is changed (e.g. in process scale up, technology transfer), since the process parameters of the method used for the preparation (such as the evaporation rate, cooling rate) can provide similar physical characteristics (e.g. PSD, Tg), but substantially different dissolution behaviour due to changes in the chemical arrangement.

Therefore, the need of a more thorough understanding of the possible arrangements of the components in the amorphous form should be of interest to future research in the field of solid dispersions in order to achieve constant product quality.

#### Acknowledgements

Special thanks to MKS Umetrics for providing software support. This study was supported by Specific Research Project SVV 260 291 of Charles University in Prague.

This study was supported by Zentiva, k.s., the Prague Development Site.

#### References

- [1] Y. Lu, N. Tang, R. Lian, J. Qi, W. Wu, Understanding the relationship between wettability and dissolution of solid dispersion, *Int. J. Pharm.* 465 (2014) 25–31.
- [2] E. Badens, V. Majerik, G. Horváth, L. Szokonya, N. Bosc, E. Teillaud, G. Charbit, Comparison of solid dispersions produced by supercritical antisolvent and spray-freezing technologies, *Int. J. Pharm.* 377 (2009) 25–34.
- [3] G. Verreck, K. Six, G. Van den Mooter, L. Baert, J. Peeters, M.E. Brewster, Characterization of solid dispersions of itraconazole and hydroxypropylmethylcellulose prepared by melt extrusion - part I, *Int. J. Pharm.* 251 (2003) 165–174.
- [4] L.W. Chiou, S. Riegelman, Pharmaceutical applications of solid dispersion systems, *J. Pharm. Sci.* 60 (1971) 1281–1302.
- [5] C. Leuner, J. Dressman, Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 50 (2000) 47–60.
- [6] J.H. Joe, W.M. Lee, Y.J. Park, K.H. Joe, D.H. Oh, Y.G. Seo, J.S. Woo, C.S. Yong, H.G. Choi, Effect of the solid-dispersion method on the solubility and crystalline property of tacrolimus, *Int. J. Pharm.* 395 (2010) 161–166.
- [7] E. Broman, C. Khoo, L.S. Taylor, A comparison of alternative polymer excipients and processing methods for making solid dispersions of a poorly water soluble drug, *Int. J. Pharm.* 222 (2001) 139–151.
- [8] A.T.M. Serajuddin, Solid dispersion of poorly water-soluble drugs: early promises, subsequent problems, and recent breakthroughs, *J. Pharm. Sci.* 88 (1999) 1058–1066.
- [9] D.Q.M. Craig, The mechanisms of drug release from solid dispersions in water-soluble polymers, *Int. J. Pharm.* 231 (2002) 131–144.
- [10] K. Kawakami, Current status of amorphous formulation and other special dosage forms as formulations for early clinical phases, *J. Pharm. Sci.* 98 (2009) 2875–2885.
- [11] A. Paudel, Z.A. Worku, J. Meeus, S. Guns, G. Van den Mooter, Manufacturing of solid dispersions of poorly water soluble drugs by spray drying: formulation and process considerations, *Int. J. Pharm.* 453 (2013) 253–284.
- [12] Y.C. Chen, H.O. Ho, J.D. Chiou, M.T. Sheu, Physical and dissolution characterization of cimetidine solid dispersions prepared by hot melt granulation (HMG) and thermal adhesion granulation (TAG) methods, *Int. J. Pharm.* 473 (2014) 458–468.
- [13] M. Maniruzzaman, J.S. Boateng, M.J. Snowden, D. Douroumis, A review of hot-melt extrusion: process technology to pharmaceutical products, *Int. Sch. Res. Not.* (2012), <http://dx.doi.org/10.5402/2012/436763>.
- [14] J.E. Patterson, M.B. James, A.H. Forster, R.W. Lancaster, J.M. Butler, T. Rades, Preparation of glass solutions of three poorly water soluble drugs by spray drying, melt extrusion and ball milling, *Int. J. Pharm.* 336 (2007) 22–34.
- [15] U. Paaver, J. Heinämäki, I. Laidmäe, A. Lust, J. Kozlova, E. Sillaste, K. Kirsimäe, P. Veski, K. Kogermann, Electrospun nanofibers as a potential controlled-release solid dispersion system for poorly water-soluble drugs, *Int. J. Pharm.* 479 (2015) 252–260.
- [16] Z. Dong, A. Chatterji, H. Sandhu, D.S. Choi, H. Chokshi, N. Shah, Evaluation of solid state properties of solid dispersions prepared by hot-melt extrusion and solvent co-precipitation, *Int. J. Pharm.* 355 (2008) 141–149.
- [17] S. Sethia, E. Squillante, Solid dispersion of carbamazepine in PVP K30 by conventional solvent evaporation and supercritical methods, *Int. J. Pharm.* 272 (2004) 1–10.
- [18] D.E. Alonzo, Y. Gao, D. Zhou, H. Mo, G.G. Zhang, L.S. Taylor, Dissolution and precipitation behavior of amorphous solid dispersions, *J. Pharm. Sci.* 100 (2011) 3316–3331.
- [19] M. Maniruzzaman, D.J. Morgan, A.P. Mendham, J. Pang, M.J. Snowden, D. Douroumis, Drug-polymer intermolecular interactions in hot-melt extruded solid dispersions, *Int. J. Pharm.* 443 (2013) 199–208.
- [20] H. Al-Obeidi, M.J. Lawrence, S. Shah, H. Moghul, N. Al-Saden, F. Bari, Effect of drug-polymer interactions on the aqueous solubility of milled solid dispersions, *Int. J. Pharm.* 446 (2013) 100–105.
- [21] P. Ke, S. Hasegawa, H. Al-Obeidi, G. Buckton, Investigation of preparation methods on surface/bulk structural relaxation and glass fragility of amorphous solid dispersions, *Int. J. Pharm.* 422 (2012) 170–178.
- [22] A.M. Agrawal, M.S. Dudhedia, A.D. Patel, M.S. Raikes, Characterization and performance assessment of solid dispersions prepared by hot melt extrusion and spray drying process, *Int. J. Pharm.* 457 (2013) 71–81.
- [23] S. Guns, A. Derymeyer, P. Kaysert, V. Mathot, J.A. Martens, G. Van den Mooter, Comparison between hot-melt extrusion and spray-drying for manufacturing solid dispersions of the graft copolymer of ethylene glycol and vinylalcohol, *Pharm. Res.* 28 (2011) 673–682.

## PŘÍLOHA 3

**Beneš M.,** Quality by Design - plánované řízení kvality ve farmaceutickém průmyslu.  
Chemické listy, 2017, XX (XX), Přijato k publikování 17. 3. 2017. [IF 2015: 0,279] – viz  
**příloha 3**

Předmětem teoretického článku v příloze 3 je Quality by design. Jedná se o systematický přístup, pomocí kterého je kvalita zabudována do přípravku již ve stádiu jeho vývoje. Popsán je zde způsob, jakým je tento přístup uplatňován v praxi a jaké má součásti. Dále jsou zde popsány také nástroje, které se v QbD používají. Příkladem nástrojů používaných při QbD je statisticky navržený experiment (DoE) a multivariační datová analýza (MVDA). Oba tyto nástroje je možné použít i samostatně. Mohou významně zefektivnit experimentální práci a také pomoci při vyhodnocování složitých souborů experimentálně získaných dat. Právě v těchto aplikacích byly DoE a MVDA použity v jednotlivých experimentech této dizertační práce.

Rutinní používání těchto nástrojů může pomoci při vytváření tzv. předchozích znalostí (Prior knowledge) a tím rozšířit poznatky v oblastech kde se uplatňují. Výsledkem vhodně navrženého DoE je komplexní popis celého experimentálního prostoru. Pomocí MVDA lze zase snáze nalézt souvislosti mezi (mnoha) proměnnými a pozorováními. V přiloženém článku je komplexně popsáno, jakým způsobem je možné takto získané informace uplatnit v celém systému cíleného vytváření kvality léčivého přípravku.

# QUALITY BY DESIGN - PLÁNOVANÉ ŘÍZENÍ KVALITY VE FARMACEUTICKÉM PRŮMYSLU

## **Jména autorů:**

**Michal Beneš**, Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra farmaceutické technologie, Heyrovského 1203, 500 05, Hradec Králové;  
E-mail: michal.benes84@gmail.com; benem4aa@faf.cuni.cz

**Klíčová slova:** jištění kvality; plánované řízení kvality; statisticky navržený experiment; procesní analytická technologie, operační prostor

**Key words:** Quality assurance; quality by design; design of experiment; process analytical technology; design space

## **OBSAH**

Abstrakt.....	2
1. Úvod.....	2
2. Jak vznikl přístup Quality by design.....	3
3. Definice a cíl Quality by design.....	4
4. Realizace a základní součásti Quality by design .....	5
4.1. Cílový kvalitativní profil přípravku.....	6
4.2. Kritické kvalitativní atributy .....	6
4.3. Návrh složení a informace o přípravku .....	7
4.4. Návrh výrobního procesu a výrobních parametrů.....	8
4.5. Operační prostor .....	8
4.6. Procesní kontrola a kontrolní strategie.....	9
4.7. Způsobilost procesu a kontinuální zlepšování .....	10
5. Nástroje Quality by design.....	11
5.1. Předchozí znalosti.....	11
5.2. Hodnocení rizik.....	11
5.3. Statisticky navržené experimenty .....	12

5.4. Procesní analytická technologie.....	13
6. Závěr .....	13
7. Literatura .....	15

## ABSTRAKT

Quality by design (QbD) je systematický přístup k vývoji léčivých přípravků, který začíná definováním cílové kvality přípravku. Pokračuje hodnocením rizika, které pro kvalitu léčivého přípravku představují charakteristiky vstupních materiálů a procesní parametry použitých výrobních postupů. Dalším krokem je experimentální zjištění faktického vlivu vytipovaných charakteristik materiálů a výrobních parametrů a vytýčení operačního prostoru, tzv. design space (DS). DS je abstraktní vícerozměrný prostor, ve kterém je možné vzájemnými kombinacemi proměnných dosáhnout produktu požadované kvality. Na základě získaných informací je možné proces efektivně optimalizovat a také stanovit vhodnou kontrolní strategii v místech, která pro kvalitu přípravku představují největší riziko, případně přinášejí informaci v dostatečném předstihu, aby bylo možné vhodnou úpravou procesních podmínek zvrátit potenciálně nevhodný vývoj procesu. Informace získané pomocí nástrojů QbD je možné použít pro zrychlení registrace nových přípravků a zejména pro dramatické zvýšení efektivity výrobních procesů a jistoty dosažení produktu požadované kvality.

**Zkratky:** FDA (Food and Drug Administration); QbD (quality by design); ICH (International conference on harmonization); DoE (design of experiment); PAT (process analytical technology); QTPP (quality target product profile); CQA (Critical quality attributes); CPP (critical process parameters); CMA (critical material attributes); DoE (design of experiment); DS (design space); FMEA (failure mode effect analysis); FMECA (failure mode, effect and criticality analysis); RPN (risk priority number); FDA (Food and drug administration); DMAIC (Define, measure, analyze, improve, control);

## 1. ÚVOD

Odpovídající kvalita je ve farmaceutickém průmyslu tradičně zajištěna kontrolou vstupních materiálů, důslednými kontrolami dodržování schváleného výrobního procesu a testováním finálního produktu, který musí splňovat schválenou specifikaci.<sup>1</sup>



Tento přístup má řadu nevýhod. Je neflexibilní, procesy se obtížně modernizují, jelikož změna procesních parametrů může vyžadovat časově náročnou změnu v registraci. Vliv kritických parametrů (týkajících se složení, resp. procesu) není dostatečně prozkoumaný, a proto k jeho schvalování regulátoři přistupují opatrně a k rozhodování potřebují více času. Specifikační limity jsou hojně nastaveny na základě jednoho pokusu, který často neprobíhá ve výrobním měřítku. Validace probíhají obvykle na třech šaržích, ale s minimálními změnami procesních parametrů.<sup>2</sup> Téměř žádná pozornost není věnována tomu, jakým způsobem může vhodně navržený a efektivní proces zajistit kvalitu přípravku.<sup>3</sup> Je také zřejmé, že rozsáhlé testování samo neznamená zlepšení kvality produktu.<sup>4</sup>

Snaha o zlepšení situace a usnadnění schvalování inovativních přístupů ke tvorbě léčivých přípravků sahá do období kolem roku 2000. Novelizované právní normy platné do té doby (nejen) ve Spojených státech zaváděly řadu nových požadavků. Ty měly vyřešit problémy související zejména s nedostatečnou znalostí výrobců o kritických stupních výroby, avšak zároveň neúměrně prodlužovaly dobu a náklady na schvalování žádostí o registraci a o změny v registracích. Negativním důsledkem legislativních změn byla také neochota výrobců k zavádění nových technologií, pramenící z nedostatku informací o tom, jakým způsobem budou regulační autority na takové inovace nahlížet. Výrobci tak často raději udržovali nevhodné výrobní postupy, udává se až 50 % podíl odpadu z celkového objemu výroby<sup>5</sup>, a nutné změny, které by vedly ke snížení výrobních nákladů a k technologickému rozvoji, odkládali. Docházelo k častým výpadkům výroby.<sup>6</sup>

## 2. JAK VZNIKL PŘÍSTUP QUALITY BY DESIGN

V roce 2002 přišla FDA s iniciativou *Správná výrobní praxe pro 21. století*, jejímž hlavním cílem je modernizace lékové regulace a způsobu řízení kvality ve farmaceutickém průmyslu prostřednictvím přístupu založeného na hodnocení a řízení rizik.<sup>5</sup> Podle tohoto konceptu má být kvalita, bezpečnost a účinnost zabudována výrobcem do přípravku v co nejranější fázi jeho životního cyklu<sup>7</sup> a má být založena na důkladné znalosti vlastností formulace a proměnných procesu.<sup>8</sup> Tento přístup se nazývá Quality by design, česky je možné jej pojmenovat jako **plánované řízení kvality** a publikován byl již v roce 1985<sup>9</sup>. Pro použití ve farmaceutickém vývoji byly zpracovány do směrnic Mezinárodní komise pro harmonizaci (ICH), které obsahují nejen definice a rozsah požadavků, ale také velmi podrobné pokyny a příklady provedení a popisují možné způsoby implementace.<sup>4</sup> Z hlediska QbD je nejvýznamnější směrnice *ICH Q8 Pharmaceutical development*.<sup>10</sup> V ní je vymezen rozdíl mezi tradičním, také minimálním, a QbD, neboli vylepšeným přístupem k farmaceutickému vývoji.

Směrnice ICH Q8 klade důraz na úroveň dosažených znalostí, nikoliv na objem generovaných dat.<sup>6</sup> Je zřejmé, že do DS ani není možné zahrnout všechny proměnné vývoje, resp. výroby léčivých přípravků. Při definování DS jsou proto uvažovány především ty proměnné, které představují riziko pro kvalitu, bezpečnost, nebo účinnost léčivého přípravku. S ohledem na míru rizika je třeba systematicky určit kritické jakostní ukazatele vstupních materiálů (tzv. Critical Quality Attributes, CQA) a kritické procesní parametry (Critical process parameters, CPP). Součástí QbD je proto směrnice *ICH Q9 Quality risk management*, která popisuje principy systematického řízení rizik spojených s výrobou/vývojem léčivých přípravků a také nástroje, které je k tomu možné použít. Řízení rizik podle ICH Q9 má být založeno na vědeckých poznatcích a mělo by za každých okolností směřovat k ochraně pacienta. Úroveň úsilí věnovaného řízení rizik by mělo být úměrné míře následků rizika.<sup>6</sup>

Poslední součástí QbD představuje směrnice ICH Q10 (Pharmaceutical quality system), jejíž funkcí je doplnit požadavky směrnic Q8 a Q9 v oblasti řízení kvality ve farmaceutických firmách. Požadavky jsou založené na využití pokročilých znalostí procesů a vlastností přípravků, například statisticky vyhodnocených dat nasbíraných ve výrobě za delší časový úsek tak, aby bylo možné kvalitu nepřetržitě zlepšovat. Zlepšováním kvality se zde rozumí nejen vylepšování bezpečnosti, kvality a účinnosti přípravků, ale také zvyšování robustnosti a efektivnosti výrobních procesů a zlepšování systému jištění jakosti. Systém kontinuálního zlepšování kvality má umožnit snadné a systematické zavádění inovativních přístupů a posílit propojení poznatků získaných ve vývoji přípravku s výrobou.<sup>6</sup>

### 3. DEFINICE A CÍL QUALITY BY DESIGN

Podle definice uvedené ve směrnici ICH Q8 je QbD systematický přístup k vývoji, který začíná definováním cílů, klade důraz na důkladnou znalost produktu a procesu a na řízení procesů a je založený na vědeckých znalostech a řízení rizik týkajících se kvality.<sup>13</sup> Rozšířená definice popisuje QbD navíc jako vědecký, holistický a proaktivní přístup orientovaný na pacienta, který začíná definováním kvalitativních cílů, kterých je dosaženo na základě znalosti produktu, výrobního procesu a způsobu kontroly výrobního procesu.<sup>9</sup> Cíle, rizika i znalosti jsou stanoveny, respektive získány za použití specifických nástrojů QbD (viz dále). Pomocí QbD je možné navrhnout flexibilní a zároveň robustní výrobní proces a formulaci, které je možné v definovaných, a zároveň zaregistrovaných mezích přizpůsobit tak, aby přípravek vždy dosahoval konzistentní kvality.<sup>3</sup>

Juran, autor principů QbD, věřil, že většina problémů s kvalitou souvisí s tím, jakým způsobem byla v počátku kvalita naplánována a zabudována do produktu.<sup>14</sup> Znalost procesu a jeho kontrolní mechanismy poskytují dostatečnou zárukou toho, že přípravek splní

požadavky uvedené ve specifikaci, čímž je umožněno dokonce i propouštění výrobní šarže v reálném čase.<sup>3</sup> Finální testování hotového produktu podle specifikace tak při výrobě podle principů QbD slouží výhradně k potvrzení dosažené kvality produktu, nikoliv k hodnocení konzistence výroby a jejímu řízení.<sup>15</sup>

Cílem QbD je systematické získávání a účelné využívání vědeckých a inženýrských poznatků napříč životním cyklem přípravku.<sup>16</sup> Jeho zavedením se regulační autority snaží podpořit farmaceutické firmy ve vytváření předvídatelných a robustních procesů, které zajišťují definovanou kvalitu vyráběných přípravků.<sup>6</sup>

Mezi dalšími cíli zavedení principů QbD je možné jmenovat:

1. Snížení variability produktu a chybovosti výroby, předcházení nutnosti stahování vadných přípravků z distribuce.
2. Zvýšení efektivity vývoje a výroby díky systematickému přístupu, QbD může usnadnit vypracování analýzy hlavní příčiny v případě výskytu závady v jakosti produktu, znalost modelu procesu v malém měřítku může výrazně urychlit proces zvyšování měřítka výroby.
3. QbD může urychlit registrační řízení a usnadnit zavádění poregistračních změn; rozsáhlá znalost procesu/formulace může nahradit nutnost poregistračního změnového řízení.<sup>4</sup>

#### 4. REALIZACE A ZÁKLADNÍ SOUČÁSTI QUALITY BY DESIGN

Charakteristickým rysem farmaceutického vývoje je, že každý přípravek je unikátní a vyžaduje individuální přístup, a proto není možné vytvořit univerzální pracovní návod na QbD.<sup>6</sup> Zároveň je možné QbD způsobem přistupovat k řešení problémů v mnoha různých oblastech ve farmaceutickém průmyslu, a to od vývoje syntézy účinných látek, přes formulační, analytický a biofarmaceutický vývoj, až po různé procesy ve výrobě.<sup>17</sup>

Základním krokem na začátku vývoje léčivého přípravku podle principů QbD, je vytvoření cílového kvalitativního profilu přípravku (quality target product profile, QTPP), tj. definování vlastností, které by v ideálním případě měl finální přípravek mít v závěru výroby. Mezi těmito vlastnostmi je dále nutné pomocí analýzy rizik identifikovat ty, které mají potenciálně kritický vliv na kvalitu z hlediska bezpečnosti pro pacienty a z hlediska účinnosti přípravku. Tyto parametry se v QbD terminologii označují jako kritické kvalitativní atributy (Critical Quality Attributes, CQA). Hodnotí se ty, které souvisejí se složením lékové formy (kritické materiálové atributy, Critical Material Attributes, CMA) a parametry související s výrobním procesem (kritické procesní parametry, Critical Process Parameters, CPP).<sup>18</sup>

Vliv jednotlivých CMA/ CPP se obvykle vyhodnocuje na základě statisticky navržených experimentů (Design of Experiment, DoE), jejichž analýzou, resp. na základě předchozí



znalosti (tzv. prior knowledge) je možné definovat DS.<sup>6</sup> Znalost vícerozměrného DS se následně použije pro definování flexibilního a robustního výrobního procesu, který je možné ve stanovených rozmezích přizpůsobovat, a i přes variabilitu vstupních proměnných, resp. odchýlení od optimálních hodnot v průběhu procesu, docílit konzistentního výstupu.<sup>19</sup>

Na základě vyhodnocení analýzy rizik, resp. důležitosti kritických atributů kvality přípravku (CQA), a znalosti DS je také ustanovena strategie řízení (control strategy). Jde o sadu rutinních kontrolních mechanismů, tj. nastavení analýz vstupních surovin, resp. meziproductů a měření procesních parametrů během všech výrobních stupňů, které udržují produkt a výrobní proces v rámci definovaného DS a poskytují tak záruku dosažení požadované kvality přípravku (QTPP).<sup>11</sup>

Prostřednictvím dlouhodobého sběru dat o vstupních materiálech a systematického vyhodnocování výrobních parametrů je možné výrobu průběžně optimalizovat a zlepšovat její robustnost a efektivitu.<sup>18</sup>

#### 4.1. CÍLOVÝ KVALITATIVNÍ PROFIL PŘÍPRAVKU

Cílový kvalitativní profil přípravku (Quality target product profile, QTPP) je prospektivní souhrn údajů a vlastností, které by přípravek měl mít, aby byl bezpečný, a aby opakovatelně zajistil zamýšlený terapeutický účinek. Není možné zabudovat kvalitu do přípravku, pokud nejsou stanoveny kvalitativní parametry, kterých chceme docílit.<sup>15</sup> Definování QTPP může formulačním specialistům pomoci vytvořit vhodnou strategii a lépe soustředit úsilí a aktivity ve vývoji definovaným směrem.<sup>9</sup>

Pro pevné lékové formy s okamžitým uvolňováním patří mezi QTPP například zkoušky totožnosti, obsahu, vlastnosti lékové formy (např. pevnost, rozměry, barva), čistota, deklarovaná doba použitelnosti, disoluce, atd. Pro generické přípravky je při definování požadované kvality (QTPP) vzorem originální léčivý přípravek, některé parametry ale mohou vycházet odjinud, např. z literatury, či z lékopisu. U originálních přípravků je situace složitější, nemají žádnou předlohu a parametry je nutné odvodit například ze zamýšleného použití, lékové formy, síly, informací získaných z preformulační charakteristiky účinné látky, a podobně.<sup>12</sup> Do jisté míry je potom možné QTPP použít pro návrh specifikace přípravku.<sup>3</sup>

#### 4.2. KRITICKÉ KVALITATIVNÍ ATRIBUTY

Farmaceutická výroba se obvykle skládá z řady samostatných po sobě jdoucích operací, na jejichž konci stojí léčivý přípravek, který je zpravidla tvořen směsí účinné a pomocných látek.<sup>3</sup> Takto složitý systém poskytuje velké množství stupňů volnosti, jejichž variabilita může významným způsobem ovlivňovat kvalitu přípravku. Identifikace proměnných, které mají na kvalitu přípravku potenciálně kritický vliv (critical quality attributes, CQA), se provádí pomocí analýzy rizik. Rizika se vyhodnocují z hlediska bezpečnosti a účinnosti, neboli závažnosti

potenciální újmy, kterou může pacient utrpět, pokud sledovaný parametr, definovaný při vytváření QTPP, překročí stanovenou mez, a to na základě dřívější znalosti daného procesu, nebo vlastností podobných molekul/lékových forem, případně s použitím relevantních dat z literatury, apod.<sup>19</sup> Pravděpodobnost výskytu, detekovatelnost a zvladatelnost rizika v tomto případě neovlivňují kritičnost atributu.<sup>4</sup>

CQA jsou fyzikální, chemické, biologické, nebo mikrobiologické vlastnosti a charakteristiky přípravku, které mají splňovat vhodný limit, rozmezí nebo distribuci, aby byla zajištěna požadovaná kvalita. U pevných lékových forem jsou typickými kritickými kvalitativními atributy (CQA) ty, které mají vliv na čistotu, sílu, uvolňování léčivé látky a stabilitu.<sup>13</sup> Mezi nekritické atributy pevných lékových forem je obvykle možné zařadit barvu, tvar, vůni, oděr a další.<sup>4</sup> CQA jiných typů lékových forem mohou navíc zahrnovat vlastnosti pro ně typické – např. aerodynamické vlastnosti inhalačních přípravků, sterilita parenterálních přípravků, případně adhezivita transdermálních přípravků. U vstupních materiálů, resp. meziproduktů se za CQA obvykle považují např. distribuce velikosti částic nebo sytná hustota.<sup>13</sup>

#### 4.3. NÁVRH SLOŽENÍ A INFORMACE O PŘÍPRAVKU

Základním cílem návrhu složení přípravku a získání dostatečných informací (např. vliv funkčních excipientů) o něm je vytvořit robustní produkt, který dosahuje navrhovaného kvalitativního profilu (QTPP) a uchovává si jej po celou dobu své použitelnosti. Vývoj robustní formulace s vhodně vytipovanými a zvládnutými kritickými kvalitativními atributy (CQA) vyžaduje pečlivé uvážení významu a vlivu všech relevantních fyzikálních, chemických a biologických vlastností vstupních materiálů, především účinné látky. Mezi fyzikálními vlastnostmi jde především o velikost a morfologii částic, polymorfismus, rozpustnost napříč pH, pravou disoluci, hygroskopicitu a teplotu tání. Chemické vlastnosti zahrnují především pKa, chemickou stabilitu v pevné fázi i v roztoku, fotolytickou a oxidativní stabilitu. Z biologických vlastností je nutné sledovat především rozdělovací koeficient, permeabilitu a biodostupnost. Podobné vlastnosti se sledují také u pomocných látek zamýšlených pro použití v dané formulaci, které svým vlivem na stabilitu, vyrobiteľnost a biodostupnost také představují významný zdroj variability vlastností přípravku.<sup>4</sup>

Robustní formulaci, tedy formulaci, která žádnou svojí vlastností není na hranici splnění specifikačních kritérií, je možné získat na základě provedení optimalizační studie. Bez optimalizace je zvolené složení považováno za rizikové, protože není zjištěn vliv složení, či kvality materiálů na kvalitu nebo chování léčivého přípravku.<sup>4</sup>

Podstatou optimalizace složení je nalezení kritických vlastností materiálů (Critical Material Attributes, CMA) a jejich provázání s kritickými ukazateli kvality přípravku (CQA). V identifikaci kritických kvalitativních atributů použitých materiálů (CMA) se uplatňuje

analýza rizik, ev. vědecké znalosti a zkušenosti formulačního specialisty. S vytipovanými CMA se provede vlastní optimalizace, obvykle pomocí DoE, tj. stanoví se rozmezí, resp. DS, pokud se jedná o kombinaci více parametrů, v nichž použitý materiál zaručuje dosažení vyhovujících CQA přípravku. Poslední součástí optimalizace složení je určení strategie kontrol, pomocí kterých je možné efektivně odfiltrovat materiály s nevyhovujícími CMA.<sup>4</sup>

#### 4.4. NÁVRH VÝROBNÍHO PROCESU A VÝROBNÍCH PARAMETRŮ

Výrobní procesy ve farmaceutickém průmyslu se obvykle skládají z několika samostatných operací a za dostatečně dobře popsané je možné je označit tehdy, pokud jsou popsané všechny kritické zdroje variability, pokud je variabilitu možné udržet pod kontrolou a pokud je možné přesně a spolehlivě předpovědět kritické kvalitativní ukazatele CQA přípravku.<sup>4</sup> Za součást výrobního procesu se považuje také personál, vzorkování a zacházení se vzorky, kontrola, údržba, a podobně.<sup>7</sup>

Směrnice ICH Q8 definuje kritické výrobní parametry (critical proces parameters, CPP) jako parametry, jejichž změna má přímý vliv na kritické ukazatele kvality přípravku (CQA) a je proto třeba je sledovat a řídit tak, aby byla zajištěna požadovaná kvalita.<sup>13</sup> Při identifikaci CPP a získávání potřebných informací o procesu se postupuje velmi podobně jako u kritických atributů materiálů (CMA) a zahrnuje vytvoření přehledu všech možných procesních parametrů, které mohou ovlivnit kvalitu přípravku. Všechny parametry jsou podrobeny analýze rizik a s těmi, které jsou identifikovány jako potenciálně kritické, se provádí optimalizační studie. Experimentálně, tj. například pomocí DoE, se ověří úroveň, rozmezí, eventuálně DS rizikových procesních parametrů jednotlivých operací, ze kterých se sestává výroba přípravku. Na základě experimentálního zjištění vlivu kritických parametrů procesu (CPP) je ustanovena kontrolní strategie, která pomáhá zajistit požadovaný průběh procesu.<sup>4</sup>

Cílem je vytvořit předvídatelný a robustní proces, to je takový, který zajistí dosahování požadované kvality a chování přípravku na základě znalosti proměnlivosti a vlivu kritických procesních parametrů a jejich vzájemných závislostí.<sup>4</sup> Přidanou hodnotou rozšířené znalosti je také nižší frekvence výskytu výrobních odchylek, nižší chybovost a lepší využití zdrojů, zejména pracovního času zařízení, resp. personálu.<sup>7</sup>

#### 4.5. OPERAČNÍ PROSTOR

Operační prostor (design space, DS), je možné chápat jako množinu znalostí a ponaučení ze zkušeností, a jeho hlavním účelem je usnadnit rozhodování. Ve farmaceutickém průmyslu je DS shrnutím zkušeností získaných během vývoje přípravku a uvedených v relevantní části dossieru.<sup>7</sup>

Podle definice ICH Q8 je DS vícerozměrná kombinace a interakce vstupních proměnných (tj. vybraných jakostních ukazatelů materiálů-CMA a kritických procesních

parametrů - CPP), u níž bylo prokázáno, že poskytuje požadovanou kvalitu přípravku. Úprava procesních parametrů, resp. ve složení, která je uvnitř DS není považována za změnu. Naopak změna mimo hranice DS vyvolá potřebu poregistračního změnového řízení. DS je navrhován a předkládán k registraci žadatelem a podléhá hodnocení a schvalování registrační autoritou.<sup>13</sup> Předložení DS je nejpřímějším způsobem, jak registrační autoritě prezentovat a doložit dostatečnou znalost procesu.<sup>15</sup>

Obvykle je DS definován pomocí vícerozměrných experimentů (např. obrázek 1), tj. takových, které obsahují více než jednu proměnnou v jednom pokusu, resp. sadě pokusů, provedených v laboratorním měřítku. Pro použití ve výrobě je pak nutné vhodným způsobem prokázat, že vytvořený model reprezentuje i proces jiné velikosti. To je možné například pokud je DS postaven na bezrozměrných parametrech, případně na parametrech, které na měřítku výroby nejsou závislé. Součástí DS mohou být také statistická data získaná v minulosti, která jsou relevantní ke konkrétní výrobní operaci, resp. k použitým surovinám.<sup>2</sup> Registrační autoritě se DS předkládá ve formě rozmezí kritických vlastností materiálu a procesních parametrů (CMA a CPP) a jejich vlivu na kritické ukazatele kvality přípravku (CQA), anebo ve formě matematického popisu vztahů vstupních proměnných.<sup>13</sup>

Možnost pohybovat se v rámci registrovaného DS umožňuje výraznou flexibilitu například při pozdější optimalizaci procesu, nebo při nutnosti zaměnit vstupní materiál za jiný, s jinou funkční charakteristikou.<sup>3</sup> Znalost DS určuje rozsah změny CPP/CMA, kterou je ještě možné provést, aby CQA ještě odpovídaly požadované kvalitě přípravku (tj. splňovaly specifikaci, resp. QTPP).<sup>9</sup>

#### 4.6. PROCESNÍ KONTROLA A KONTROLNÍ STRATEGIE

Kontrolní strategie je definována jako plánovaná sada kontrol, odvozená z pokročilé znalosti materiálů, přípravku a výrobního procesu. Zajišťuje, aby proces probíhal v rámci definovaného DS, a tedy že přípravek splňuje definovaný QTPP. Jinými slovy kontrolní strategie zajišťuje, aby proces probíhal tak, že je stále zajištěna požadovaná kvalita (mezi)produktu. Navrhuje se pomocí analýzy rizik, hodnocené na základě kritických ukazatelů kvality přípravku (CQA). Kontrolní strategie může zahrnovat kontrolu organizačních procesů, např. transport materiálu, kontrolu výrobních procesů, resp. jednotlivých operací, kontroly výrobních zařízení a prostor, monitorování DS, mezioperačních kontrol, propouštěcích analýz, analýz vstupních materiálů, stabilitních testů, a dalších.<sup>19</sup> Kontrolní strategie je závislá na konkrétním přípravku a měla by minimálně zajistit vyhovující hodnoty kritických parametrů procesu (CPP) a kritických vlastností výchozích materiálů (CMA), tedy nejvýznamnější zdroje variability kvality přípravku, tak aby kvalita přípravku (tj. CQA) byla v limitech definovaných v QTPP.<sup>13</sup>

Kontrolní strategie může zahrnovat tři úrovně kontrol. **Úroveň 1** využívá automatické regulační monitorování kritických ukazatelů kvality produktu (CQA) na výstupu v reálném čase. Tento způsob je možné nejlépe přizpůsobovat konkrétní výrobní operaci. Sledují se vstupní kritické kvalitativní atributy materiálu (CMA) a kritické procesní parametry (CPP). Jakmile je detekována změna mimo dovolené rozmezí, dojde k automatické úpravě parametrů tak, aby bylo zajištěno dosažení požadovaných CQA přípravku.<sup>3</sup> Tento způsob kontroly poskytuje oproti testování finálního produktu nejvyšší jistotu kvality. Testování v reálném čase lze provést pomocí vhodné procesní analytické technologie (PAT, viz dále), nebo pomocí prediktivních zástupných parametrů, tzv. surogátů, které jsou součástí modelu a mohou nahradit testování konečného produktu. **Úroveň 2** je založena na kombinaci redukování testování finálního přípravku a částečné kontroly vstupních materiálů a parametrů procesů (CMA a CPP). Čím důkladnější jsou kontroly na vstupu (CMA a CPP), tím více je možné testování redukovat na konci. Jako **úroveň 3** se označuje tradiční přístup k zajišťování kvality, který se v průmyslu dosud (v Evropě) používá nejčastěji, a který se vyznačuje rozsáhlým testováním finálního přípravku, těsně nastavených norem pro vstupní materiály i pro hodnoty procesních parametrů pevně předepsaných v operačních listech. Zdroje variability jsou však v tomto případě nedostatečně charakterizovány. Ověřují se pouze pomocí 3 stejně nastavených pilotních šarží a vliv materiálových a výrobních parametrů (CMA a CPP) na kvalitativní atributy přípravku (CQA) není dostatečně popsán. Takto kontrolovaný proces je neflexibilní, protože každá jeho změna vyžaduje kontakt s regulační autoritou.<sup>4</sup>

#### 4.7. ZPŮSOBILOST PROCESU A KONTINUÁLNÍ ZLEPŠOVÁNÍ

Způsobilost procesu (process capability) je míra vnitřní variability ustáleného procesu, resp. jeho výsledků (tj. jednotlivé výsledky nevykazují trend apod.) a jeho schopnosti splnit limity specifikace (viz obrázek 2). Je možné ji popsat také jako míru využití specifikačního limitu souborem výsledků daného procesu, jejichž variabilita odpovídá vnitřní variabilitě procesu.<sup>4</sup>

Způsobilost procesu je možné kvantifikovat pomocí tzv. indexu způsobilosti, který slouží jako měřítko kontinuálního zlepšování procesů, zaměřeného na snižování vnitřní variability procesů a vstupních materiálů. Kontinuální zlepšování je podle QbD soubor aktivit, obvykle rozdělených do pěti fází a nazývá se DMAIC (tj. Define, Measure, Analyze, Improve, Control).<sup>19</sup>

1. Definování problému a nastavení specifických cílů projektu.
2. Měření klíčových aspektů současného procesu a sběr relevantních dat.
3. Analyzování dat a vyhledání hlavních příčin problému.



4. Zlepšení (Improvement) a optimalizace současného procesu založené na datech získaných analýzou, případně pomocí výsledků statisticky navrženého experimentu.
5. Kontrola (Control), sledování a řízení procesu tak, aby případnou odchylku bylo možné napravit dříve, než by mohla způsobit vadu.

U dříve zavedených přípravků se kontinuální zlepšování zaměřuje na analýzu historicky získaných výrobních dat. Například pomocí multivariační analýzy vyhledává mezi vlastnostmi surovin a hodnotami procesních parametrů souvislost s odchylkami anebo výrobními vadami. Nové přípravky s registrovaným DS proces průběžného zlepšování výrazně usnadňují, protože vylepšený proces (v rámci DS) není nutné znovu registrovat.<sup>4</sup>

## 5. NÁSTROJE QBD

### 5.1. PŘEDCHOZÍ ZNALOSTI

Ačkoliv termín předchozí znalost (Prior knowledge) není ve směrnici ICH Q8 přesně definován, vyskytuje se zde, a nejen ve spojitosti s QbD se používá hojně. Předchozí znalost lze v QbD získat pouze praxí a ze zkušenosti, nikoliv vzděláním. Slovo „předchozí“ (prior) zde neodkazuje pouze na znalost získanou dříve, ale vyjadřuje také vlastnický vztah k informaci a její důvěrnost, neboť často jde o znalosti, k jejichž získání byly vynaloženy nemalé prostředky.<sup>2</sup>

Předchozí znalost může zahrnovat poznatky získané při vývoji léčivé látky a léčivého přípravku, případně ne/úspěšného vývoje jiného přípravku, poznatky o vstupních materiálech, jejich funkčních vlastnostech a případné variabilitě vlastností, poznatky o výrobním procesu, konkrétním zařízení nebo jeho funkční části, zkušenosti získané při výrobě a testování podobných lékových forem, resp. léčivých přípravků včetně příčin případných výrobních odchylek, reklamací zákazníků, a podobně.<sup>19</sup>

Vytváření předchozí znalosti, například DoE model definující procesní parametry (CPP) konkrétní výrobní operace, je často možné naplánovat tak, aby je bylo možno použít univerzálně pro všechny přípravky zpracovávané touto operací (např. testováním nejhoršího případu).<sup>2</sup>

### 5.2. HODNOCENÍ RIZIK

Hodnocení rizik je systematický proces organizování informací, který umožňuje efektivní a cílené zaměření zdrojů během vývoje na parametry, které mají kritický vliv na kvalitu přípravku a na průběh procesu. Jde o nástroj, kterým se rizika proaktivně vyhledávají, vědecky hodnotí a následně řídí.<sup>19</sup> Obvykle se uplatňuje v raných fázích vývoje. Bez přihlédnutí k významu jednotlivých rizik a jejich racionální prioritizace, může docházet

k neúčelnému testování a provádění experimentů, které neposkytují nepostradatelné informace, zatímco klíčové proměnné zůstanou opominuty.<sup>2</sup>

Rizika se vyhodnocují na základě závažnosti případných důsledků, četnosti výskytu a možnosti včasné detekce a nápravy. Každému z hodnotících kritérií, konkrétního rizika, je přidělena hodnota na číselné stupnici. Jejich součin, tzv. číslo priority rizika (Risk priority number, RPN), je kvantitativní mírou rizika a umožňuje seřadit rizikové parametry podle jejich významu.<sup>19</sup>

Hodnocení významu rizik by mělo být založeno na odborných znalostech a zkušenostech týmu specialistů v relevantních disciplínách.<sup>19</sup> Probíhá především s přihlédnutím k ochraně pacienta a v rozsahu úměrném potenciálním následkům rizik.<sup>4</sup> Nástroje, které je k hodnocení rizik možné použít jsou uvedeny ve směrnici ICH Q9<sup>10</sup> a patří mezi ně: např. diagramy, histogramy, odškrtačací seznamy, analýza stromu událostí, filtrování a řazení rizik, analýza možného výskytu a vlivu vad (tzv. FMEA = Failure Mode Effect Analysis), analýza možných vad, jejich důsledků a kritičnosti (tzv. FMECA = Failure Mode, Effect and Criticality Analysis), předběžná analýza zdrojů rizika (preliminary hazard analysis), a další.<sup>10</sup>

### 5.3. STATISTICKY NAVRŽENÉ EXPERIMENTY

Proces výroby léčivého přípravku se obvykle skládá z několika výrobních kroků. Seznam vstupních a výstupních parametrů každého z nich může být velmi obsáhlý. Značný objem různých vlastností doprovází i výběr vhodných excipientů a je zřejmé, že není možné experimentálně prověřit všechny dostupné kombinace.<sup>3</sup> Pomocí nástrojů pro vyhodnocování rizik a na základě uplatnění předchozích znalostí je možné určit a empiricky seřadit podle důležitosti faktory které mají potenciálně kritický vliv na kvalitu přípravku. Jedná se především o faktory spojené s vlastnostmi vstupních materiálů, nastavením procesních parametrů a vlastnostmi zařízení.<sup>1, 13</sup>

Statistický návrh experiment (DoE) je strukturovaný a organizovaný přístup, pomocí něhož je možné určit vliv zvolených vstupních faktorů na vybrané odezvy. Při vývoji léčivých přípravků se jako vstupní faktory obvykle volí vlastnosti výchozích materiálů, např. viskozita pojiva, velikost částic, apod. a vstupní parametry, např. rychlost postřiku, délka granulace apod., zatímco jako odezvy je vhodné vybírat kritické kvalitativní atributy přípravku (CQA), kterými jsou např. rozpad tablet, disoluce, a podobně.<sup>1</sup>

Pomocí DoE je možné prokázat, resp. kvantifikovat skutečný vliv vytypovaných faktorů. Kombinací několika DoE, které popisují proměnné jednotlivých součástí, složení a výrobního procesu, je možné poskládat mechanistický model, který popisuje chování celého systému a vysvětluje vliv a význam všech vstupních proměnných na CQA přípravku.<sup>1</sup>

Na základě získaného modelu je možné v rámci DS najít optimální kombinaci výrobních parametrů přizpůsobených aktuálním vlastnostem vstupních materiálů (v rámci definovaných mezí) a dosáhnout kvality přípravku definované na začátku v jeho cílovém kvalitativním profilu. Vytvořením mechanistického modelu, a tedy dosažení podrobné znalosti produktu a výrobního procesu je také naplněn hlavní cíl QbD.<sup>4</sup>

#### 5.4. PROCESNÍ ANALYTICKÁ TECHNOLOGIE

Kvalita přípravků vyrobených tradičním způsobem je řízena/zabezpečena prostřednictvím pevně stanovených kontrol výrobních operací a vstupních materiálů, resp. meziproduktů a produktů. Variabilita takto řízeného procesu není v žádném kroku nijak eliminována a v průběhu výroby může postupně narůstat. Projevuje se proměnlivostí kvality produktu a představuje zvýšené riziko ztráty nevyhovující šarže.<sup>18</sup>

Naproti tomu dynamické řízení procesu, založené na použití procesní analytické technologie (Process Analytical Technology, PAT), umožňuje přizpůsobení procesních parametrů aktuálním vlastnostem materiálu. Výsledkem je výrazné snížení variability a velmi konzistentní kvalita přípravku.<sup>18</sup>

Směrnice ICH Q8 definuje PAT jako systém pro navrhování, analyzování a kontroly výroby pomocí měření kvalitativních ukazatelů (CMA, CPP a CQA) v reálném čase.<sup>13</sup> Kontinuální monitoring pomocí PAT umožňuje včasnou detekci případné odchylky a eventuálně vhodné přenastavení procesních parametrů. Napomáhá udržovat průběh procesu v rámci definovaného DS a zajistit tak požadovanou kvalitu přípravku.<sup>4</sup>

Jako konkrétní nástroje PAT se uplatňuje především multivariační sběr dat a jejich analýza a moderní procesní analyzátoři (tj. nástroje procesní analytické chemie).<sup>12</sup> Získání vícerozměrných (multivariačních) dat a vytvoření multifaktoriálního modelu vyžaduje rozsáhlé předchozí experimentální testování, s jehož pomocí se identifikují kritické parametry. Získané poznatky se integrují do kontrolní strategie procesu tak, aby došlo k propojení jakostních ukazatelů přípravku (CQA) s průběhem procesu. Na základě systematicky získaných procesních dat je také možné proces průběžně optimalizovat.<sup>4</sup> Příkladem procesních analyzátorů může být laserová difrakce pro měření velikosti částic při sprejovém sušení, nebo HPLC při měření homogenity tekuté směsi při mísení.<sup>12</sup>

### 6. ZÁVĚR

QbD je moderní způsob práce, jehož hlavním cílem je, co možná nejefektivněji a s co největší mírou jistoty, zajistit přípravek předem definované kvality. Pomocí QbD je možné získat maximální možné znalosti o surovinách, výrobních procesech a jejich vlivu na kvalitu přípravku.<sup>12</sup> Jako největší nevýhoda využití přístupu QbD se nejčastěji uvádí výrazný nárůst



nákladů za vývoj, který souvisí se zvýšeným objemem laboratorních experimentů a výraznou administrativní zátěží spojenou s vytvářením požadované dokumentace. To může být limitující zejména pro menší biotechnologické firmy, které lze v současnosti považovat za jeden z nejvýznamnějších zdrojů inovací a nových originálních přípravků ve farmaceutickém průmyslu.<sup>6</sup> U větších firem je spíše než nárůst celkových nákladů možné očekávat přerozdělení zdrojů/prostředků směrem od výroby k vývoji<sup>20</sup> a k zajištění potřebných dovedností pracovníků.<sup>12</sup>

Naopak pozitivní dopad má QbD, podle názoru odborné veřejnosti, nejenom na vnitřní procesy výrobce, ale je výhodný také pro pacienty.<sup>11</sup> Zatímco výrobce může využít pokročilé znalosti produktu a procesu ke zvýšení výtěžku procesů výroby, nižšímu výskytu a snadnějšímu řešení výrobních odchylek, průběžné optimalizaci a zlevnění výroby, k usnadnění rozhodování a k výraznému snížení chybovosti,<sup>9</sup> přínos pro pacienta spočívá především v tom, že kultura QbD usnadňuje zavádění inovativních řešení a vývoj nových technologií zaměřených na lepší péči o pacienta.<sup>11</sup>

FDA považuje QbD za způsob, kterým lze výrazně zlepšit kvalitu léčivých přípravků a zároveň zjednodušit administrativu, spojenou s registrací nových přípravků. Od 1. 1. 2013 je v USA QbD pro nově registrované generické přípravky s obsahem malých molekul jako účinných látek povinné. V Evropě je zatím použití QbD volitelné, ale lze očekávat, že evropská léková agentura EMA bude americký přístup následovat.<sup>6</sup>

Odhaduje se, že během deseti let bude QbD samozřejmě součástí farmaceutického průmyslu. Avšak toto odvětví se ani tak nestane běžným komoditním průmyslem.<sup>20</sup> Vždy bude zachována určitá úroveň empirických znalostí, jejichž platnost je třeba validovat tradičním způsobem.<sup>6</sup>

## 7. LITERATURA

1. Sumit K., Shikha T., Deepika T., Ashsih B.: *Pharm. Anal. Qual. Assur.* 4, 1 (2012).
2. Martin-Moe S., Lim F. J., Wong R. L., Sreedhara A., Sundaram J., Sane S. U.: *J. Pharm. Sci.* 100, 3031 (2010).
3. Yu L. X.: *Pharm. res.* 25.4, 781 (2008).
4. Yu, L. X., Amidon G., Khan M. A., Hoag S. W., Polli J., Raju G. K., Woodcock J.: *The AAPS Journal.* 16.4, 771 (2014).
5. Rathore A. S., Winkle H.: *Nat. Biotechnol.* 27.1, 26 (2009).
6. Elliot P., Bilingham S., Bi J., Zhang H.: *Pharm. bioprocess.* 1.1, 105 (2013).
7. McConnell J., Nunnally B. K., McGarvey B.: *J. Val. Tech.* 16.3, 30 (2010).
8. Eziokwu N. V.: *Internat. J. Current Pharm. Rev. Res.* 4, 110 (2014).
9. Purohit P. J., Shah K. V.: *Pharm. Sci. Monitor.* 4, 110 (2013).
10. Food and drug administration: Guidance for industry Q8(R2) Pharmaceutical development, (listopad 2009). <http://www.fda.gov/cber/guidelines.htm>, staženo 28. 4. 2016.
11. Cook J., Cruanes M. T., Gupta M., Riley S., Crison J.: *Pharm. sci. tech.* 15.1, 140 (2014).
12. Varu R. K., Khanna A.: *J. Generic Med.* 7.1, 60 (2009).
13. Food and drug administration: Guidance for industry Q9 Quality risk management, (červen 2006). <http://www.fda.gov/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/default.htm>, staženo 28. 4. 2016.
14. Savic I. M., Marinkovic V. D., Tasic L., Krajnovic D.: *Accred. Qual. Assur.* 17.6, 627 (2012).
15. Cogdill R. P., Drennen J. K.: *J. Pharm. Innov.* 3.1, 23 (2008).
16. Dickinson P. A., Lee W. W., Stott P. W., Townsend A. I., Smart J. P., Ghahramani P., Hammett T., Billett L., Behn S., Gibb R. C., Abrahamsson B.: *The AAPS journal.* 10.2, 380 (2008).
17. Vogt F. G., Kord A. S.: *J. Pharm. Sci.* 100.3, 797 (2011).
18. Rathore A. S.: *Curr. opin. chem. eng.* 6, 1 (2014).
19. Patil A. S., Pethe A. M.: *Int J Pharm Qual Assur.* 4, 13 (2013).
20. Kourti T., Davis B.: *Pharm. eng.* 32, 52 (2012).
21. Zhang L., Mao S.: *Asian J. Pharm. Sci.* 11, 144 (2016).
22. D'Souza S. S., Lozano R., Mayock S., Gray V.: *Dissolut. Technol.* 17, 41 (2010).

**M. Beneš** (Department of pharmaceutical technology, Faculty of Pharmacy, Charles University, Hradec Králové), Quality by design – planned quality management in pharmaceutical industry.

Quality by design is a systematic approach to drug product development and manufacturing that starts by defining the target product quality. It continues with an assessment of the risks to product quality that are involved in the characteristics of the raw materials and in the parameters of the manufacturing process. At the following stage, the actual impact of the characteristics and parameters identified is found through experiments and the design space is defined on that basis. Design space is an abstract multidimensional space in which the desired product quality can be attained by changing and controlling the variables. Based on the advanced knowledge of the product and the process obtained, the process can be optimised effectively and an appropriate control strategy set at points involving the greatest risk to quality or at points where information can be obtained well enough in advance to allow for reversing (by an appropriate adjustment of the process conditions) a potentially inappropriate course of the process. The information gained through the use of QbD tools can then be used to accelerate the registration process of a new drug product and, in particular, for a substantial increase of manufacturing process efficiency and of the certainty that the desired product quality will be achieved.